

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1960. — N° 165

LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DU KYSTE HYDATIQUE

THÈSE

présentée à la

**FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON**

et soutenue publiquement le 8 juillet 1960

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

par

KIEN-TRUONG Thai

né le 15 décembre 1933, à Travinh (Sud-Vietnam).



IMPRIMERIE V. HETTINGER

101, rue Bossuet

LYON

—
1960

LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE
DU KYTE HYDATIQUE



Digitized by the Internet Archive
in 2026

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1960. — N° 165

LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DU KYSTE HYDATIQUE

THÈSE

présentée à la

**FACULTE MIXTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
DE LYON**

et soutenue publiquement le 8 juillet 1960

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MEDECINE

par

KIEN-TRUONG Thai

né le 15 décembre 1933, à Travinh (Sud-Vietnam).



IMPRIMERIE V. HETTIGER

101, rue Bossuet

LYON

1960

PERSONNEL DE LA FACULTE

Doyen honoraire : M. J. LEPINE
Doyen : M. H. HERMANN, Correspondant de l'Institut
Assesseur : M. M. LEVRAT

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. NICOLAS, COLLET, GUIART, CADE, PATEL, LEPINE, TRILLAT,
MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE,
SANTY.

PROFESSEURS

Physiologie	MM. HERMANN
Clinique urologique	CIBERT
Physique biologique, radiologie, physiothérapie.....	PONTHUS (Beyrouth)
Clinique neuro-psychiatrique et hygiène mentale...	DECHAUME
Thérapeutique chirurgicale et chirurgie opératoire...	ROCHET
Clinique des maladies infectieuses et bactériologie..	X...
Chimie organique et toxicologie	CHAMBON
Clinique chirurgicale B	WERTHEIMER
Hydrologie thérapeutique, climatologie et écologie sociale	DELORE
Clinique médicale B	PAUPERT-RAVAULT
Clinique et prophylaxie cardio-vasculaires.....	FROMENT
Clinique chirurgicale C	CROIZAT
Chimie biologique et médicale.....	ENSELME
Clinique chirurgicale A	MALLET-GUY
Clinique de chirurgie orthopédique et de chirurgie infantile	GUILLEMINET
Pharmacie galénique et matière médicale.....	REVOL
Clinique gynécologique	POLLOSSON
Clinique obstétricale	PIGEAUD
Médecine du travail.....	BOURRET
Clinique médicale A	LEVRAT
Hygiène et action sanitaire et sociale.....	SOHIER
Clinique stomatologique	DUCLOS
Clinique médicale infantile et hygiène du premier âge	BERNHEIM
Biologie médicale et pharmacodynamie.....	JOURDAN
Botanique et cryptogamie	NETIEN
Clinique chirurgicale C	BERTRAND
Chimie analytique pharmaceutique.....	BADINAND
Pharmacie et pharmacologie.....	DREVON
Médecine légale et déontologie.....	ROCHE
Parasitologie et pathologie exotique.....	COUDERT
Clinique oto-rhino-laryngologique	MOUNIER-KUHN
Clinique ophtalmologique	PAUFIQUE
Clinique dermatologique et syphiligraphique.....	THIERS
Clinique pneumo-phthisiologie	BRUN
Clinique traumatologie des membres.....	CREYSSSEL Jean
Cancérologie	D'ARGENT
Anatomie pathologique	GUICHARD
Pathologie générale et expérimentale.....	GIRARD Paul
Anatomie	LATARJET
Pathologie chirurgicale	PEYCELON
Thérapeutique	GIRARD Marcel
Pathologie médicale	VACHON
Physio-pathologie des voies respiratoires	GALY
Histologie	KEHL

PROFESSEUR A TITRE PERSONNEL

Physique nucléaire appliquée à la médecine..... MM. BERGER
Technologie pharmaceutique DORCHE



PROFESSEURS TITULAIRES SANS CHAIRE

Obstétrique	MM. BANSSILLON
Parasitologie	ROMAN
Bactériologie	BERTOYE
Physiologie	CIER J.-F.
Physiologie	CHATONNET

MAITRES DE CONFERENCES AGREGES

Chimie organique et toxicologie.....	MM. PERROT
Anatomie pathologique	FEROLDI
Pharmacie et pharmacologie.....	CIER André
Chimie biologique et médicale	CREYSEL
Anatomie	DUROUX
Thérapeutique	BRETTE
Histologie	DUMONT
Hygiène	THIVOLET
Parasitologie	GARIN
Physique	MORET
Botanique et cryptogamie	ODDOUX

AGREGES EN EXERCICE

Neuro-chirurgie, chargé d'enseignement.....	MM. LEGUIRE
Cardiologie, chargé d'enseignement	GONIN
Obstétrique	MATHIEU
Orthopédie	MARION
Propédeutique médicale, chargé d'enseignement....	PONT
Pathologie médicale, chargé d'enseignement.....	VIGNON
Pathologie médicale, chargé d'enseignement	REVOL
Pathologie chirurgicale, chargé d'enseignement....	JAUBERT de BEAUJEU
Médecine générale	TRAEGER
Pathologie chirurgicale, chargé d'enseignement....	GUILLEMIN
Electro-radiologie, chargé d'enseignement.....	PAPILLON
Obstétrique, chargé d'enseignement.....	BURTHIAULT
Pédiatrie, puériculture, chargé d'enseignement....	FRANCOIS
Médecine générale	GUINET
Pathologie chirurgicale	SAUTOT
Chirurgie générale	MARION
Chirurgie générale	MICHAUD
Maladies infectieuses	MONNET
O. R. L.	GIGNOUX
Stomatologie	FREIDEL
Médecine générale	PLAUCHU
Pathologie médicale, chargé d'enseignement.....	DEVIC
Médecine légale, chargé d'enseignement.....	COLIN
Neurologie, chargé d'enseignement.....	GUYOTAT
Obstétrique, chargé d'enseignement	DUMONT
Urologie, chargé d'enseignement.....	DURAND
Chirurgie générale, chargé d'enseignement	FRANCILLON
Médecine générale	DESPIERRES
Chirurgie générale	DE MOURGUES
Chirurgie générale	SAUBIER
Dermatologie	COLOMB
Médecine du travail	TOLOT
Neurologie psychiatrie	SCHOTT
Ophthalmologie	BONAMOUR

EXAMINATEURS DE LA THESE

M. COUDERT, *Président.*

MM. BERTOYE, GARIN, COLOMB, *Assesseurs.*

A MON PERE ET A MA MERE

A TOUS LES MIENS

Leurs sacrifices pour l'éducation et l'instruction de leur enfant, de leur petit frère n'ont pas été vains.

Qu'ils veuillent trouver ici le témoignage de mon affection et de ma reconnaissance.

A MA FEMME

A MES ENFANTS :

SOVANARI

SOVANARA

A MES BEAUX-PARENTS

Je leur dédie ce modeste travail : faible témoignage d'attachement et de reconnaissance pour leur affection, leur dévouement et leurs sacrifices.

A NOTRE PRESIDENT DE THESE

MONSIEUR LE PROFESSEUR J. COUDERT

*Professeur de parasitologie à la Faculté mixte de Médecine
et de Pharmacie de Lyon*

Il a bien voulu nous inspirer ce travail
et nous a fait le grand honneur d'accepter la
présidence de cette thèse.

Qu'il trouve ici l'expression de notre gra-
titude et l'assurance de notre profond res-
pect.

A NOS JUGES

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ A. BERTOYE

Professeur agrégé de bactériologie
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Il a accepté de faire partie de notre jury.
Nous lui exprimons notre gratitude et nos
remerciements.

MONSIEUR LE PROFESSEUR J.-P. GARIN

Professeur agrégé de parasitologie
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Nous le remercions d'avoir bien voulu ac-
cepter de faire partie de notre jury.

MONSIEUR LE PROFESSEUR AGRÉGÉ D. COLOMB

Professeur agrégé de dermatologie
à la Faculté mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon

Sensible à l'honneur qu'il nous fait en ac-
ceptant d'être de nos juges.

A NOS MAITRES
DE LA FACULTE DE MEDECINE DE LYON
DES HOPITAUX CIVILS DE LYON
ET DE L'HOPITAL MILITAIRE D'INSTRUCTION DES GENETTES

AUX AUTORITES
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTE MILITAIRE DE LYON

A TOUS MES AMIS ET CAMARADES
DE L'ECOLE DU SERVICE DE SANTE MILITAIRE DE LYON

A MONSIEUR LE MÉDECIN-GÉNÉRAL GIRAUD

Professeur agrégé du Val-de-Grâce

Chirurgien des Hôpitaux militaires

*Ancien directeur de l'Ecole du Service de Santé militaire
et de l'Hôpital Desgenettes*

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COLONEL PROTAR

Spécialiste des Hôpitaux militaires

Médecin-chef de l'Hôpital militaire d'instruction Desgenettes

A MONSIEUR LE MÉDECIN-LIEUTENANT-COLONEL BOUCHER

Spécialiste des Hôpitaux militaires

*Chef du service de Phthisiologie et de Pneumologie
de l'Hôpital Desgenettes*

Après un semestre passé agréablement
dans son service, nous trouvons en lui un
homme de science.

Nous lui exprimons notre reconnaissance
et notre admiration.

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COMMANDANT THALABAR

Spécialiste des Hôpitaux militaires

Chef du service d'Ophtalmologie de l'Hôpital Desgenettes

A MONSIEUR LE MÉDECIN-CAPITAINE DUMAS

Assistant de l'Hôpital militaire d'instruction Desgenettes

Chef bienveillant et dévoué, il reste pour
nous un ami et un exemple.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de
notre admiration et de notre amitié.

A SAMDEACH UPAYUVAREACH NORODOM SIHANOUK

Clairvoyant et plein de modération, il a su mener notre Kampuchéa à l'indépendance.

C'est certainement grâce à son esprit jeune et dynamique que nous pouvons être formés dans des Facultés françaises par des hommes dont leur science force l'admiration.

Qu'il veuille trouver ici l'expression de nos respects, de notre reconnaissance et de notre profonde admiration.

A MONSIEUR LE MAJOR GÉNÉRAL LON-NOL

Ministre de la Défense nationale du Cambodge

Chef d'Etat-Major général des Forces Armées Royales Khmères

Commandant en chef des Forces Armées Royales Khmères

A S. A. LE CHEF DE BATAILLON SISOWATH-METHAVI

*Attaché militaire de terre, de mer et de l'air
des Forces Armées Royales Khmères à Paris*

Chef bienveillant et plein de compréhension.

Nous lui présentons un faible témoignage de notre reconnaissance pour l'aide immense qu'il s'est dévoué à nous apporter

A MONSIEUR LE CHEF DE BATAILLON SREY-SAMAN

Directeur du Cabinet du Département de la Défense nationale du Cambodge

A MONSIEUR LE MÉDECIN-COMMANDANT THAI-SI-CHHIN

Directeur du Service de Santé des Forces Armées Royales Khmères

En présentant cette thèse, nous sommes très heureux de remercier tous ceux qui, au laboratoire, nous ont apporté leur précieuse aide à sa réalisation : notre ami le Docteur Yves GIBERT, qui nous a donné des renseignements précis sur les différentes techniques; Mme SIMON et Mlle le Docteur BATTISTI.

Et mon ami TRAN-KY, jeune et spirituel polyglotte, qui m'a beaucoup aidé dans la traduction des différentes publications étrangères.

INTRODUCTION

L'hydatidose, maladie parasitaire commune à l'homme et à l'animal, est liée au développement dans l'organisme atteint de l'embryon hexacanthé d'un petit ténia : le *Tœnia échénococcus* de Von Siebold.

Due à un métazoaire dont une partie du cycle biologique s'effectue dans le tissu, elle ne se prête qu'exceptionnellement à l'examen direct de l'agent causal, l'élément fondamental apportant la certitude au diagnostic clinique. En dehors de l'éventualité d'une vomique ou d'une rupture du kyste avec communication à l'extérieur, contenant des débris identifiables, qui sont plutôt de véritables complications, on doit chercher à établir le diagnostic de façon aussi précoce que possible et confirmer de façon indiscutable la spécificité du parasite à l'appui de la symptomatologie clinique actuellement bien connue.

Il est pour nous d'une importance primordiale d'appliquer au chapitre du diagnostic biologique du kyste hydatique les nouvelles méthodes immunologiques qui, grâce aux progrès réalisés récemment, nous promettent un intérêt puissant et un avenir très encourageant.

C'est ainsi que J. Coudert nous a alors proposé d'entreprendre cette thèse révisant toutes les méthodes immunologiques anciennes et récentes de diagnostic biologique du kyste hydatique, en vue d'application clinique.

La marche que nous nous proposons de suivre dans ce travail est fort simple :

— Au premier chapitre, nous faisons un rappel sur l'histoire générale de la maladie.

— Nous passerons, au deuxième chapitre, aux généralités sur l'immunité parasitaire.

— Nous consacrerons le troisième chapitre à l'étude du cycle évolutif du parasite, de l'évolution et des complications du kyste hydatique chez l'homme.

— Le quatrième chapitre est réservé à l'étude des différentes méthodes immunologiques du diagnostic du kyste hydatique. Dans

la première partie, nous portons notre étude sur les réactions non spécifiques en insistant sur l'éosinophilie sanguine.

L'étude des réactions spécifiques occupe toute la deuxième partie. Nous y détaillerons successivement l'intra-dermo-réaction de Casoni, la précipito-réaction de Fleig et de Lisbonne, la réaction sur milieu gelifié suivant la technique de Oudin-Ouchterlony, l'immuno-électrophorèse, la réaction de déviation du complément de Weinberg et Parvu, puis, en dernier lieu, les réactions d'agglutination des particules de collodion sensibilisées de Cavelti et de flocculation des particules de bentonite sensibilisées de Bozicevich et la réaction d'hémagglutination passive de Boyden.

Nous discutons, dans la conclusion, les valeurs diagnostiques et sémiologiques de ces différentes réactions.

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE GÉNÉRAL

Une lésion aussi singulière ne pouvait passer inaperçue aux observateurs de l'antiquité. Cependant, cette « hydropisie de la poitrine » d'Hippocrate ne devait acquérir son individualité qu'au XVIII^e siècle.

Attribuée à une dégénérescence glandulaire par les anciens jusqu'en 1781, au moment où Pallas avait démontré et admis la nature animale des hydatides des moutons et dues à des véritables *tœnias* vésiculaires.

L'année suivante (1782), Goeze entreprenait l'étude microscopique et parlait de granulations tapissant la face interne de la « pellicule interne ». Il ne tardait pas à découvrir les petites têtes de *tœnia* avec leur couronne de crochets. Il proposait alors le nom de *tœnia visceralis socialis granulosa*.

Désormais, la nature des hydatides rencontrées chez les animaux était élucidée. En revanche, celle des hydatides observées chez l'homme devait rester discutée encore pour un temps.

Laënnec (1804) considéra les hydatides de l'homme comme étant « des êtres d'une autre nature ou d'un autre genre ».

Goeze, puis Rudolphi, en 1806, signalaient le rapprochement des hydatides d'origine animale et humaine. Mais c'est surtout Bremser (1821), qui identifia explicitement ces petits corps « pourvus de quatre suçoirs et d'une couronne de crochets » chez l'homme. La division proposée par Laënnec devenait donc caduque.

Si la nature du kyste avait été définitivement établie, il n'en était pas de même de son origine. Des auteurs soutenaient la « génération spontanée », d'autres admettaient un apport extérieur du germe parasitaire. En 1842, Steenstrup émit la théorie de la génération alter-

nante. Cinq ans plus tard, en 1847, Van Beneden formulait la « loi de transmigration des vers parasitaires ».

Ces nouvelles notions avaient permis à von Siebold de déterminer, en 1853, le stade adulte du parasite. C'est à lui qu'on doit le terme de *Tœnia Echinococcus*.

Bientôt les découvertes de Siebold furent confirmées par les expériences de Küchenmeister, de van Beneden et de Luckart.

Puis, en 1862, Luckart et Heubner arrivaient à réaliser le cycle évolutif du parasite chez le cochon de lait. Ce furent Krabbe et Finsen (1865), puis Naunyn (1868) qui, les premiers, réussirent à obtenir le *tœnia* adulte à partir des kystes de l'homme. Le grand cycle évolutif naturel était ainsi établi.

Les travaux de F. Dévé, réalisés en 1900-1901, devaient établir ensuite la réalité d'une transformation directe des scolex eux-mêmes en vésicules échinocoques et le rôle capital de ce processus dans l'échinococcose secondaire. Un petit cycle existe donc à côté du grand cycle échinocoque.

Parallèlement à ces idées médicales concernant la biologie et la pathogénie de cette maladie, des progrès sont acquis dans la connaissance de la symptomatologie, des complications, du diagnostic et du traitement.

L'étiologie de la maladie hydatique s'était trouvée fixée d'emblée par les expériences de Siebold.

La pathogénie, demeurée longtemps incertaine, fut élucidée par l'expérimentation réalisée en 1904-1910 par F. Dévé et ses collaborateurs.

Quant à la symptomatologie, elle s'était limitée avec Davaine aux phénomènes de compression. En 1867, Finsen avait fait remarquer que la compression n'est pas le seul phénomène déterminé par la présence de l'entozoaire dans le tissu. Ce n'est que vers la fin du XIX^e siècle que des observations de divers auteurs devaient mettre en lumière l'existence de troubles liés à une « intoxication hydatique » aiguë ou chronique (Debove et Achard, 1888. E. Quénu et P. Duval, 1898). Ces données s'étaient trouvées confirmées et précisées par la découverte ultérieure de certaines réactions biologiques témoignant d'une imprégnation de l'organisme par des substances spécifiques émanant du parasite enkysté. Ainsi, en 1883, Sabrazas, après avoir constaté l'éosinophilie sanguine, fonda l'espoir sur les recherches de ces éléments éosinophiles dans le diagnostic du kyste hydatique.

Puis, de 1890 à 1900, d'autres réactions avaient vu le jour pour tomber aussitôt dans l'oubli, telles la réaction d'Abderhalden, la réaction

à la meio-stagnine d'Ascoli, la réaction de Prausnitz-Küstner ou l'anaphylaxie passive.

En 1907, Fleig et Lisbonne, forts de la notion de précipitines découvertes par Joest et Gherardini (1906), communiquaient les premiers résultats de leur précipito-réaction.

Ghedini, Imaz Apphali et Lorentz en République Argentine, puis Weinberg et Parvu en France (1908), essayaient la réaction de déviation du complément.

L'intra-dermo-réaction de Casoni venait, en 1910, clore la liste des différentes méthodes classiquement connues de diagnostic du kyste hydatique.

La découverte de l'anaphylaxie par Portier et Ch. Richet (1902), a permis de pénétrer plus intimement dans le déterminisme des accidents et dans le mécanisme des réactions biologiques. La notion d'allergie hydatique venait se joindre à la notion d'anaphylaxie au cours de ces dernières années, grâce à la découverte de von Pirquet.

Plus récemment les auteurs, en particulier les Américains, ont apporté d'autres méthodes : la **réaction de diffusion en milieu gélatiné** selon la technique de Oudin-Ouchterlony, la réaction d'agglutination des particules de collodion sensibilisées selon la technique de Cavelti et la réaction de flocculation des particules de bentonite sensibilisées de Bozicevich (1958). L'immuno-électrophorèse, actuellement réservée à quelques laboratoires spécialisés, semble nous promettre un avenir et un intérêt puissants.

Parallèlement, nos connaissances sur les différentes localisations du kyste hydatique se sont élargies grâce à la découverte et à l'application en clinique des rayons X.

D'autre part, le traitement des kystes hydatiques s'est profondément modifié. Les anciennes techniques, telles que la ponction thérapeutique, accompagnée ou non d'injection parasiticide, les timides ouvertures chirurgicales effectuées en deux temps... sont actuellement complètement abandonnées. Puis à la marsupialisation des kystes en deux ou en un temps s'est substituée de plus en plus la réduction de la poche sans drainage (Thorton, Bond, Posadas, P. Delbet). Aujourd'hui, on complète l'opération par le temps prophylactique préalable constitué par une injection intra-kystique à la fois parasiticide et antitoxique effectuée au cours de l'intervention, avant l'ouverture de la poche. Actuellement, grâce à des méthodes nouvelles de préparation des antigènes parasitaires (lyophilisation), on a relancé l'antigénothérapie dans le traitement médical du kyste hydatique.

CHAPITRE II

LOI GÉNÉRALE DE L'IMMUNOLOGIE PARASITAIRE

INTRODUCTION

Depuis longtemps les opinions sont unanimes sur les réactions de tout organisme humain ou animal parasité contre les parasites ou contre les produits qu'ils élaborent, par divers mécanismes immunologiques. L'organisme possède la propriété de fabriquer des anticorps contre les constituants antigéniques de ces parasites.

Cependant, pendant longtemps, on a pensé que les manifestations pathologiques observées dans les parasitoses étaient sous la dépendance des toxines secrétées par ces parasites. De ce fait, l'étude des phénomènes immunologiques a été négligée dans le domaine parasitologique.

Maintenant, grâce aux travaux récents, on arrive à démontrer d'une façon irréfutable l'existence des anticorps parasitaires dans les humeurs et les tissus de l'hôte.

Dès lors, l'explication de ces manifestations pathologiques au cours des parasitoses, se trouve rattachée à la présence de ces anticorps. C'est la combinaison anticorps-antigène qui est à la base de ces manifestations pathologiques les plus diverses : accidents anaphylactiques et allergiques.

L'étude de l'immunologie parasitaire et, en particulier, celle de l'antigène et de l'anticorps, se heurte à beaucoup de difficultés. La grande diversité des parasites, la complexité structurale de certains d'entre eux, l'impossibilité de les cultiver *in vitro*, l'intervention souvent prédominante de leur métabolite rendant la préparation d'antigènes spécifiques particulièrement délicate, constituent autant d'obstacles difficilement surmontables. En étudiant les différentes

méthodes immunologiques de diagnostic, nous verrons quel essor a pris l'étude des antigènes et des anticorps.

A part quelques variantes, les phénomènes d'immunologie parasitaire sont tout à fait comparables à ceux de l'immunologie bactérienne.

Ainsi, nous allons examiner successivement l'immunité parasitaire, la réaction tissulaire, les antigènes et les anticorps parasitaires, puis les rapports entre hôte et parasites.

IMMUNITÉ

On distingue classiquement l'immunité naturelle et l'immunité acquise.

1° L'immunité naturelle représente un état spontanément réfractaire à un ou plusieurs parasitismes donnés. Nos connaissances sur ce phénomène se réduisent à des hypothèses souvent controversées. Elle semble conditionnée par la spécificité phylogénique, fruit de l'adaptation parasitaire, et par la spécificité éthologique, phénomène lié aux mœurs de l'hôte. Dans ce dernier cas, nous concevons facilement l'intervention des facteurs sociaux, raciaux et familiaux, des facteurs individuels de réceptivité, du facteur d'âge, etc..., bien que le mécanisme intime de leur action reste mal connu.

2° L'immunité acquise, fruit d'une immunisation active, est mieux connue. L'organisme, envahi par les éléments parasitaires, devient le siège d'un certain nombre de réactions localisées ou généralisées, communes ou spécifiques. Véritables réponses de l'organisme à l'infestation parasitaire, elles se trouvent sous la dépendance d'un certain nombre de facteurs :

— Elles sont proportionnelles au nombre des parasites ou à la masse antigénique.

— Une répétition de l'agression parasitaire peut donner lieu à deux sortes de réponses suivant le rythme de la réinfestation. Dans une réinfestation rapprochée, les réponses se cumulent, dans le cas contraire, la courbe d'anticorps remonte brutalement, traduisant ce qu'on appelle le phénomène de mémoire humorale.

— La localisation des parasites a une importance capitale. Une localisation strictement intestinale n'entraîne qu'une faible réponse, presque nulle. Les parasites intra-tissulaires ou ceux qui comportent une phase d'évolution sanguine provoquent des réponses spécifiques ou non, beaucoup plus importantes.

— La nature du contact du parasite avec les tissus environnants joue également un rôle. La forme enkystée des parasites est moins antigénétique que la forme libre.

— L'intensité du métabolisme du parasite est loin d'être négligeable. On oppose la faible intensité du métabolisme d'une larve immobile en diapause à celle du parasite en migration ou en plein développement.

Nous voyons donc que l'immunité parasitaire dépend d'un nombre considérable de facteurs. Il y a souvent intrication entre immunité naturelle et immunité acquise.

REACTIONS TISSULAIRES

La phagocytose s'observe au cours des parasitoses. Il s'agit d'une réaction de protection qui peut être efficace, mais le plus souvent apparente et sans effet.

Les réactions inflammatoires sont bien connues. Elles se manifestent soit localement, soit à distance.

La métaplasie, l'hyperplasie bénigne ou la néoplasie maligne constituant de véritables cancers parasitaires sont connues depuis longtemps.

Une réaction à distance due à la diffusion des « toxines » parasitaires se traduit par une modification de la formule sanguine. L'éosinophilie périphérique a été parfaitement étudiée au cours de ces dernières années. Elle constitue un élément de diagnostic biologique de différentes parasitoses.

Ce ne sont là que des réactions communes et non spécifiques. Nous allons aborder l'étude des réactions spécifiques en envisageant l'étude des antigènes et des anticorps parasitaires.

LES ACTIONS ANTIGENIQUES DU PARASITE LES ANTIGENES PARASITAIRES

Le problème est généralement beaucoup plus difficile à résoudre ici qu'en bactériologie.

La diversité des parasites impose des servitudes aux procédés d'investigation. La complexité constitutionnelle des parasites, génératrice de l'existence de nombreux antigènes à l'intérieur d'un même

élément, vient compliquer singulièrement la pratique des réactions anticorps-antigène.

Les antigènes des parasites du même groupe zoologique ou même de groupes différents, peuvent présenter des fractions communes et rendent impossible toute tentative d'isoler les antigènes.

Les antigènes produits par une larve ne sont pas forcément les mêmes que ceux élaborés par une forme adulte, et ceux extraits à partir des parasites cultivés *in vitro* n'auront pas les mêmes propriétés que ceux retirés des parasites vrais.

C'est dire la complexité des antigènes parasitaires.

Peut-être un jour l'immuno-électrophorèse permettra d'identifier différentes fractions antigéniques et facilitera l'étude des antigènes parasitaires. J. Coudert, utilisant la lyophilisation, a résolu en partie ce problème. Il reste néanmoins beaucoup à faire dans ce domaine.

LES REACTIONS SPECIFIQUES DE L'ORGANISME-HOTE

LES ANTICORPS

Ces antigènes font apparaître chez l'hôte toute une série d'anticorps correspondants, se prêtant à leur mise en évidence par diverses méthodes biologiques :

— Les anticorps parasitocides mis en évidence par différents tests de lyse : la séro-atténuation, l'immobilisation, l'altération morphologique et la lyse complète.

— Les sensibilisatrices fixant le complément sont à la base du procédé de Bordet-Gengou.

— Les précipitines peuvent être mises en évidence de plusieurs façons :

La réaction de précipitation simple, en tube.

La réaction de précipitation spécifique en milieu gélifié (Oudin-Ouchterlony).

L'immuno-électrophorèse.

La méthode de Marquevieille.

L'immuno-fluorescence.

Les agglutinines, bases des :

Réactions d'agglutination simple.

Réactions d'hémagglutination passive ou indirecte.

Réactions d'agglutination des particules inertes sensibilisées.

— Les opsonines de Wright, les phénomènes d'adhérence, le phénomène de Rickenberg.

— Les tests d'hypersensibilité cutanée.

La diversité antigénique entraîne nécessairement un nombre élevé d'anticorps. Ceux-ci disparaissent progressivement, mais dans un délai relativement court après la disparition du parasitisme.

RAPPORT ENTRE L'HÔTE ET LE PARASITE

Lorsqu'un organisme entre en contact avec un parasite, plusieurs éventualités sont à considérer :

- L'état réfractaire.
- La prémunition.
- L'immunité vraie.
- L'immunité par saturation.
- L'allergie.
- L'anaphylaxie.

1° L'état réfractaire.

Protégé par une immunité naturelle ou par une réaction efficace, l'organisme peut se montrer d'emblée réfractaire au parasitisme donné. Le parasite en question peut être éliminé, détruit ou retardé dans son développement.

2° La prémunition ou immunité de tolérance.

Cet état est particulièrement fréquent en parasitologie. Pour acquérir cet état de protection contre une surinfestation, l'organisme doit être infesté de façon plus ou moins latente par un ou plusieurs parasites vivants. La mort ou la disparition du parasitisme entraîne la disparition de cette prémunition. Le malade se présente alors comme un sujet immunologiquement neuf.

Le *Tœnia solium* et le *Tœnia Saginata* fournissent un exemple typique de cette loi de « préséance de Sargent ». Le terme vulgaire de *Tœnia solitaire* donné à ces *Tœnia* a, dans une certaine mesure, un sens précis. La présence dans le tube digestif d'un sujet parasité, d'un de ces cestodes, empêche un second ver de même espèce de s'établir chez le même hôte. Dans le cas d'infestation concomitante par plusieurs vers, on peut alors constater un parasitisme par plusieurs *Tœnia* de la même espèce.

La prémunition, contrairement à l'immunité vraie, ne représente qu'un état de protection fragile. L'équilibre instable se rompt à la suite d'un moindre trouble pathologique ou physiologique. Tel est le caractère fondamental qu'il ne faut pas oublier.

3° *L'immunité vraie.*

Fréquente en bactériologie, elle devient rare en parasitologie. Après un contact plus ou moins répété avec des antigènes vivants ou morts, elle s'installe de façon durable. Les rickettsioses réalisent un exemple parfait.

Cette immunité peut être spécifique ou paraspécifique.

Tous les intermédiaires existent entre l'immunité vraie et la prémunition.

4° *L'immunité par saturation.*

C'est un état tout à fait caractéristique de la maladie parasitaire : l'hôte tolère un certain nombre de parasites puis, à un niveau donné, refuse les autres. Il s'agit cependant d'un équilibre instable pouvant se maintenir plus ou moins longtemps ou se rompre.

À la pénétration d'autres parasites, l'organisme réagit alors violemment, aboutissant à l'expulsion ou à la destruction massive mais non complète d'une partie des parasites jusqu'à ce qu'un nouveau seuil soit atteint. Stewart rattache ce phénomène à une allergie.

L'helminthiase (*E. Vermicularis* et *Hymenolepsis nana*) nous en fournit un exemple typique.

Une immunité vraie peut s'établir à la longue.

5° *L'allergie.*

C'est une simple aptitude à réagir différemment d'un organisme en contact prolongé avec un antigène parasitaire. Décelable par l'intra-dermo-réaction, cette allergie peut se manifester soit au niveau des organes profonds, soit au niveau des tissus superficiels.

Les parasitoses dans lesquelles l'agent causal rejette de grandes quantités de métabolites, donnent des réactions d'allergie plus fréquentes et parfois plus polymorphes, susceptibles de modifier l'allure générale de la maladie.

Avec Pautrizel et Baillenger, on peut distinguer trois catégories de parasites au point de vue de leur pouvoir sensibilisant. Les parasites à localisation stricte dans la lumière intestinale, sensibilisent l'organisme par leurs produits de sécrétion et d'excrétion absorbés

tel quels ou après dégradation enzymatique, dégradation pouvant porter également sur des vers morts. La migration tissulaire de certains parasites participe encore plus activement à cette sensibilisation de l'organisme. La localisation exclusivement tissulaire d'autres parasites représente l'expression parfaite de cette sensibilisation. Tous les parasites sont capables de sensibiliser l'organisme, bien qu'avec plus ou moins de facilité.

Témoignée par l'éosinophilie sanguine, cette sensibilisation peut se traduire par des manifestations allergiques extrêmement diverses :

- Troubles respiratoires : toux, asthme, rhinite, syndrome de Loeffler.
- Troubles digestifs : spasmes, hémorragie, polype
- Troubles nerveux : migraine, convulsion, méningite.
- Troubles cutanés : urticaire, eczéma, œdème, prurit...
- Et d'autres.

Le mécanisme de ces réactions allergiques est lié, non pas à la présence des toxines parasitaires, comme on l'avait pensé pendant longtemps, mais à la combinaison anticorps-antigène.

Les réactions cutanées employées en clinique sont de véritables réactions allergiques limitées.

Les antigènes helminthiques semblent être particulièrement doués d'un fort pouvoir sensibilisant.

6° *L'anaphylaxie.*

Proche parente de l'allergie, l'anaphylaxie s'en distingue par une incubation plus courte et par l'existence d'une période réfractaire après le choc.

L'accident souvent dramatique survenu après une rupture d'un kyste hydatique dans la cavité péritonéale, et que l'on croyait dû à des propriétés toxiques du liquide hydatique, représente un exemple classique. De même l'action massive de certains helminthocides.

L'intra-dermo-réaction, l'oculo-réaction et la cuti-réaction ne sont autres que des phénomènes anaphylactiques. Seule l'intra-dermo-réaction, technique anodine, a pu être retenue en pratique courante. Les deux autres réactions donnent souvent lieu à de véritables accidents anaphylactiques.

CONCLUSION

Tous ces phénomènes, séparés artificiellement pour faciliter l'étude, sont en réalité fort intriqués. La physionomie d'une maladie parasitaire est constituée de leur ensemble.

Fréquente dans le domaine bactériologique, l'immunité vraie devient exceptionnelle dans les parasitoses. Les états installés chez l'hôte à la suite des modifications dues au parasitisme sont plus ou moins instables et intriqués, et se réduisent le plus souvent à une immunité relative. Tout se passe comme si la réaction de l'organisme-hôte n'arrivait pas à atteindre une intensité suffisante pour s'opposer toujours de façon totale au développement et à l'évolution du parasitisme dont les formes infestantes sont le plus souvent volumineuses. Cette tâche est beaucoup plus facile dans le cas d'une bactérie.

La présence des anticorps parasitaires est néanmoins réelle. Ils se prêtent efficacement à des réactions biologiques se basant sur la mise en évidence du complexe antigène-anticorps. En faveur d'une évolution lente et prolongée de la plupart des parasitoses, ils entrent sans cesse en contact avec les antigènes et président ainsi aux fréquentes manifestations allergiques et anaphylactiques par la formation des complexes antigène-anticorps.

Ces anticorps disparaissent assez rapidement après la disparition du parasitisme.

CHAPITRE III

CYCLE EVOLUTIF ET COMPLICATIONS

Dans ce chapitre, tout en restant bref, nous envisagerons successivement l'étude du cycle naturel, du cycle chez l'homme, l'évolution puis les complications.

CYCLE EVOLUTIF NATUREL

L'hôte principal et définitif est représenté par les carnivores, parmi lesquels le plus commun et de beaucoup le plus fréquent et le plus important est le chien.

Le *Tœnia échinocoque* adulte et sexué vit fixé, et généralement en très grand nombre, dans l'intestin de l'animal parasité.

Les anneaux terminaux, arrivés à maturité, se détachent de leurs vers et sont entraînés avec les matières fécales du chien tœnifère.

Les œufs contenus dans ces anneaux se trouvent répandus sur le sol.

Les herbivores, classiquement le mouton, en paissant l'herbe, avalent ces œufs, contenant chacun un embryon hexacanthé.

Arrivés dans le tube digestif de leurs hôtes intermédiaires, les embryons hexacanthés, libérés de leur coque rigide, pénètrent, grâce à leurs six spicules, dans l'intimité de la muqueuse digestive. De là, ils ne tarderont pas à être entraînés passivement dans la circulation générale. Véritables embolies microscopiques, ils se trouvent emportés aux hasards du courant sanguin, jusqu'au réseau capillaire du viscère ou du tissu, proche ou lointain, où ils seront arrêtés mécaniquement. Nous comprenons ainsi facilement la différence dans la localisation du kyste hydatique; en premier lieu au niveau du foie (50 % à 40 % des cas), les autres organes viennent après.

Ces larves se transforment bientôt en petits vésicules, début de la phase larvaire du parasite, caractérisant dès lors le classique kyste hydatique.

Le jour où les herbivores succombent dans le champ ou sont abattus, leurs viscères jetés se trouvent dévorés par le chien.

Les scolex échinococciques contenus dans le kyste, parvenus ainsi dans leur « milieu prédestiné », se développent en se fixant à la muqueuse intestinale de ce chien et donnent naissance à autant de ténias échinocoques.

Tel est le cycle évolutif naturel du parasite, cycle composé d'un stade larvaire, vésiculeux passé chez l'hôte intermédiaire (un herbivore) et d'un stade adulte, rubané passé chez l'hôte principal (un carnivore), respectant ainsi la loi de transmigration des vers cestodes formulée par Van Beneden.

A côté de ce grand cycle, on signale classiquement deux autres. Le premier dit petit cycle, s'accomplit chez un seul hôte. Il présidera, par l'évolution vésiculaire des scolex, à la formation des vésicules-filles endogènes et, de là, au développement de l'échinococcose secondaire. Le deuxième est un cycle anormal et constitué par le phénomène « d'enclavement germinatif erratique » et engendrera la naissance des vésicules-filles intracuticulaires ou exogènes.

CYCLE EVOLUTIF CHEZ L'HOMME

L'homme ne représente qu'un hôte intermédiaire accidentel chez lequel, selon la remarque de R. Blanchard, le parasite échinocoque « s'engage dans une impasse ». Tout ce qui est dit concernant l'hôte intermédiaire reste valable pour l'homme.

Chez l'homme passe uniquement le cycle larvaire et intra-tissulaire de ce métazoaire. La voie digestive représente la voie de pénétration essentielle, à côté de la voie respiratoire et la surface des plaies.

EVOLUTION

L'évolution des kystes ainsi formés dépend de leur vitalité initiale d'une part et, d'autre part, de la consistance et de la structure de l'organe envahi.

L'hydatis univésiculaire et active continue à s'accroître d'une manière régulière et relativement lente, sauf chez les sujets jeunes. Il peut grandir énormément et atteindre la taille d'une tête d'un nourrisson, ou de volume dépassant dix litres (Dévé).

Dans d'autres cas, le kyste entre spontanément en involution définitive par un arrêt de croissance soit précoce, soit tardif. Dans le cas

où ce processus d'involution aura lieu précocement avant le stade fertile, le kyste s'affaisse tandis que se résorbe son contenu liquide. Neutralisé par la défense de l'organisme, il va mourir aseptique. Il deviendra partiellement ou complètement calcifié. C'est l'involution aseptique de Chauffard. Dans le cas où cet arrêt de croissance sera survenu plus tardivement, à une phase où la vésicule-mère sera devenu fertile, les scolex, ayant conservé leur vitalité propre, subiront l'évolution vésiculaire habituelle et donneront naissance à d'autant de vésicules-filles dites endogènes.

COMPLICATIONS

Au cours de cette évolution normale, on peut observer trois grands ordres de complications.

Des compressions dues à l'expansion de la tumeur parasitaire au sein du viscère intéressé ou sur les organes du voisinage. Les traductions cliniques varient suivant la localisation de la tumeur.

Des fissurations partielles permettant la formation des vésicules-filles à l'extérieur du kyste principal.

Des ruptures kystiques traumatiques ou spontanées, dans la cavité ou les tissus ambiants, donnant dans l'immédiat un accident anaphylactique parfois extrêmement violent et même mortel, et dans le médiat à une échinococcose secondaire.

Des suppurations du kyste, complication devenant actuellement rare, mais toujours grave, grâce au dépistage précoce.

CONCLUSION

De ce rappel succinct que devons-nous retenir ? Les faits suivants semblent mériter notre remarque :

— L'homme n'est qu'un hôte intermédiaire accidentel chez lequel ce métazoaire passe son stade larvaire, vésiculeux et intra-tissulaire de son cycle évolutif. Il s'agit, chez l'homme, presque toujours d'une helminthiase tissulaire.

— La voie essentielle de pénétration est digestive.

— La rupture du kyste hydatique est, de loin, la complication la plus grave.

CHAPITRE IV

PREMIÈRE PARTIE

ETUDE DE RÉACTIONS NON SPÉCIFIQUES

EOSINOPHILIE SANGUINE

Parmi les réactions cellulaires de l'hôte, provoquées par les parasites, l'éosinophilie sanguine garde une certaine valeur diagnostique.

Cette altération sanguine est connue depuis la constatation de Sabrazes, en 1889, qui a fondé quelques espoirs sur la recherche des éléments éosinophiles dans le sang périphérique comme élément de diagnostic du kyste hydatique.

Très vite, ces espoirs se sont heurtés à des critiques, à des déboires. En fait, bon nombre de parasitoses, bien des affections du système hématopoïétique, de la peau, des muqueuses, bien des intoxications provoquent une réaction sanguine éosinophilique. Devant ces objections, son caractère de spécificité s'est vu perdre le droit de cité. Non spécifique, elle s'est montrée non constante pour certains auteurs. Ainsi, Dévé a fait de la façon suivante le procès de cette réaction sanguine : inconstante, elle peut manquer dans des cas d'hydatidose vraie, non spécifique, elle existe en dehors de l'échinococcose. Pour Weinberg, elle fait défaut dans moitié des cas de kyste hydatique. Lemaire et Thiodet (1955), Amar Kadi (1915), Lamiot (1823), ont admis qu'elle ne manque pas, dans les cas de kystes fissurés, rompus, dégénérés ou infectés, dans l'échinococcose secondaire, dans les kystes multiples. En la rattachant aux phénomènes d'anaphylaxie, ils ont

adopté l'attitude suivant laquelle une absence d'éosinophilie sanguine ne doit pas écarter l'hypothèse de kyste hydatique, mais simplement elle indiquerait son peu de vitalité, son peu d'activité biologique. Pour Thiodet, elle évolue parallèlement à l'urticaire; elle ne se voit guère chez les sujets qui ne font pas d'urticaire.

D'après ces différents auteurs, elle n'est présente que dans 70 % à 80 % des cas et, pour avoir une valeur diagnostique, elle doit dépasser un taux de 7 % à 8 %.

Devant ces résultats, en quelque sorte décevants, Botteri, cherchant d'autres techniques d'investigation, a pu déceler une éosinophilie « latente » en injectant de petites quantités de liquide hydatique sous la peau. Il a pu constater que le taux d'éosinophilie s'élève beaucoup plus chez les porteurs de kystes hydatiques que chez les sujets sains. Cette étude a été reprise en 1953 par Pautrizel et Gostmann. D'après ces auteurs (Botteri, Pautrizel et Gostmann, Manassei, Bacigalupo et Grosso), elle possède une nette valeur diagnostique. Puis Mario Girolami étudie l'éosinophilie médullaire. Après avoir constaté une augmentation d'éosinophilie médullaire dans l'hydatidose, il a accordé une grande valeur diagnostique à cette réaction médullaire, surtout lorsque l'éosinophilie périphérique manque et toute autre cause d'éosinophilie se trouve exclue.

Plus récemment, et grâce aux perfectionnements des techniques de numération et à l'utilisation du test de Thorn, l'éosinophilie a été particulièrement bien étudiée. A la suite de ces travaux, des règles précises sur son évolution et sur ses caractères ont été précieusement établies. Deschiens et Floch, Poirier et Lamy, en 1953, ont constaté que le test de Thorn se comporte de façon spéciale dans les parasitoses. Galliard, Lapierre et leurs élèves, ayant repris cette étude, ont montré, en 1958, le caractère d'insensibilité aux médicaments corticotropes de ces éosinophiles. Ils prétendent, à juste raison, qu'une distinction entre éosinophilie parasitaire et non parasitaire est possible. Les remarquables travaux de Lavier viennent compléter l'étude de l'éosinophilie sanguine parasitaire. Réaction générale non spécifique de l'organisme-hôte, elle obéit à des lois précises.

Les trois lois d'occurrence de Bonnin et Moretti.

— Les protozoaires ne donnent pas d'éosinophilie, même quand ils sont dans les tissus, mais ils donnent des histiocytes dans le tissu réticulé.

— Les métazoaires qui ont une évolution dans les cavités naturelles ne donnent pas d'éosinophilie.

— Ne donnent d'éosinophilie que les métazoaires qui ont au moins une partie de leur cycle dans le tissu de l'hôte.

Loi d'évolution de l'éosinophilie de Lavier.

— Elle se résume par la classique courbe en archet de Lavier, les proportions variant avec le sujet et le parasite. On distingue quatre périodes : la première est dite de latence, d'infestation; la deuxième ascensionnelle, la troisième en plateau ou d'état, et la quatrième de descente.

L'éosinophilie, d'abord très légère ou même nulle dans les premiers jours de l'infestation, monte assez rapidement, atteint un plateau à la période d'état, puis décroît progressivement pour rester stationnaire à 4 % ou 5 % tant que persiste le parasitisme. Les résultats peuvent donc être très divergents selon le moment où l'on pratique la numération.

*Loi de firlité de l'éosinophilie sous l'influence de l'A. C. T. H.
ou de la cortisone.*

Comme nous venons de voir, seule l'éosinophilie parasitaire est peu sensible au test de Thorn.

En matière de conclusion, que pourrions-nous retenir de cette éosinophilie parasitaire dans le diagnostic du kysté hydatique ?

Non spécifique, elle garde une certaine valeur diagnostique. Elle représente un élément non moins précieux dans le diagnostic d'échinococcose lorsqu'elle existe à côté d'autres signes cliniques. Obéissant à des lois d'occurrence et d'évolution précises, elle doit être correctement interprétée.

L'éosinophilie latente, provoquée par une injection sous la peau de liquide hydatique, et la résistance de cette éosinophilie au test de Thorn, représentent autant de valeurs supplémentaires de cette réaction dans le diagnostic de l'échinococcose.

Cependant, du fait de son caractère peu frappant, elle permet peu souvent un diagnostic suffisamment précoce pour que soit institué un traitement efficace.

ETUDE DES RÉACTIONS SPÉCIFIQUES D'ORDRE ANAPHYLACTIQUE ET ALLERGIQUE

INTRA-DERMO-REACTION DE CASONI

Historique.

A la suite de la découverte de Portier et Richet, Chauffard et ses collaborateurs attribuèrent les premiers à l'anaphylaxie les accidents de rupture des kystes hydatiques, considérés jusqu'alors d'origine toxique.

Après une expérimentation peu démonstrative sur l'animal, Chauffard, Boidin et Laroche (1910), tentèrent de porter cette question sur le terrain clinique, dans un but diagnostique en utilisant, pour déterminer « l'anaphylaxie passive », le sérum des sujets porteurs de kystes hydatiques. Leurs résultats, variables et d'interprétation douteuse, furent décevants. Puntoni, la même année, devait conclure également que cette méthode ne présente aucun avantage pratique. Après l'essai de cuti-réaction et d'ophtalmo-réaction, il admettait la nullité de la valeur diagnostique. En 1911, Palazzo échouait également.

Cependant, retenant des faits cliniques, traductions indiscutables d'une sensibilisation de l'organisme aux substances contenues dans le liquide hydatique : phénomènes anaphylactiques survenus à la suite d'une ponction exploratrice, ou d'une rupture de kyste, et dont certains se traduisaient par des manifestations cutanées, telles que l'urticaire, le prurit, l'œdème..., Casoni reprit les travaux des auteurs précédents et s'attacha à provoquer une réaction cutanée susceptible

de présenter une valeur diagnostique. Il essaya d'abord la cuti-réaction, selon la technique de von Pirquet. Les résultats obtenus furent sans intérêt pratique. Il s'adressa alors à l'intra-dermo-réaction, technique découverte par Mantou en 1908, et, contrairement à d'autres auteurs, il obtint des résultats très intéressants qu'il fit publier en 1912 dans *Folia Clinica Chimica Microscopica*, de l'Université de Sassari de Sardaigne. Parus dans une revue locale de faible diffusion, ses remarquables travaux ne furent repris et étudiés qu'en 1919 par beaucoup d'autres auteurs, en particulier les Italiens Gasbarrini, Luridiana, Serra Pontano, Del Torto, Manassei, Cignozzi, Bacigalupo et Grosso, Ithurrat et Calcagno, Botteri et Deusich, Servantie, Lemaire et Jahier, Lemaire et Thiodet, Gernez, Duvé, Morénas et Lagèze. L'accord est aussitôt unanime sur la simplicité et la valeur incontestables de la réaction.

Antigène employé.

Casoni et la plupart des auteurs italiens utilisaient le liquide des kystes hydatiques ovins ou bovins vivants, limpide, recueilli aseptiquement, filtré deux à trois fois et additionné d'acide phénique dans la proportion d'une goutte pour vingt centimètres cubes. La conservation à la glacière ne doit pas dépasser vingt à trente jours. Ils ont également essayé un extrait aqueux de membrane et de liquide. Les résultats leur semblent les mêmes.

Ithurrat et les auteurs argentins, de plus, utilisèrent le liquide de kyste humain. Les réactions furent identiques. Ils conseillaient d'utiliser le liquide sans chauffage préalable ni addition de substances antiseptiques. Tout antigène reconnu bon pour la réaction de déviation du complément peut être utilisé pour l'intra-dermo-réaction.

Botteri préconisa l'addition de deux pour cent de chloroforme.

Lemaire et Jahier conseillaient l'emploi de liquide d'hydatides humains, filtré sur bougies pour assurer la stérilité et la conservation et la vérification préalable du pouvoir antigénique de l'échantillon utilisé.

Gignozzi préféra le kyste hydatique de jeune bœuf.

Sette prépara un extrait à partir de liquide filtré et évaporé.

D'autres réactogènes ont été proposés, en particulier celui de Rosas Costa qui emploie avec succès un extrait hydrosoluble de poudre de *Iœnia saginata*.

La diversité du choix et de la préparation de l'antigène n'explique-t-elle pas la diversité des résultats obtenus dans différentes statistiques ?

Thiodet insiste sur les inconvénients que présente l'adjonction de substances antiseptiques au liquide hydatique et, en particulier, le formol. D'une part, elles sont inutiles lorsque le prélèvement du liquide a été fait correctement; d'autre part, elles peuvent modifier, la qualité antigénique du liquide et surtout, par elles-mêmes, elles peuvent provoquer une réaction chimique si le sujet est sensibilisé ou présente un état d'intolérance spontanée (d'idiosyncrasie) vis-à-vis de ces substances; de plus, elles peuvent précipiter la fraction réactogène. Les réactions pratiquées par de tels réactifs peuvent donc pécher soit par excès, soit par défaut. L'auteur conseille l'emploi de liquide sans préparation et, dans le cas de réaction douteuse, la pratique de la réaction avec du liquide, obtenu après dialyse, privé de ses protides. En effet, et toujours d'après cet auteur, le liquide hydatique renferme deux fractions fondamentales : la première, glucidique, est responsable de la réaction précoce d'ordre allergique; la seconde, protidique, responsable de la réaction tardive d'ordre anaphylactique.

V. Perez-Fontana confirme ces faits.

J. Coudert attache une très grande importance à l'antigène utilisé. D'après lui, les antigènes lyophilisés, en raison de leur possibilité de filtrage initial et de la conservation infinie de leurs propriétés, répondent le mieux aux qualités que doivent présenter les antigènes parasitaires si l'on veut obtenir des réactions régulières et constantes, comparables d'un malade à un autre, et aussi d'un observateur à un autre.

La technique.

La technique décrite d'une manière remarquable par Mantoux (1908), auteur de l'intra-dermo-réaction, nous semble toujours valable :

« L'instrument se réduit à une seringue de Pravaz stérilisable et à une aiguille fine. Après avoir plissé la peau, on enfonce l'aiguille presque parallèlement à la surface; on s'assure que le côté biseauté de sa pointe est tourné vers le haut et regarde, par conséquent, vers l'épiderme quand l'aiguille est en place. Chez les sujets à téguments très fins, il faut enfoncer franchement l'aiguille, puis, la pointe étant dans l'hypoderme, la relever légèrement et aborder le derme par sa face profonde, sinon on risque de la traverser de part en part. L'opération est absolument analogue à une injection traçante de cocaïne; l'aiguille bien fixée, on pousse le liquide qui forme une petite papule qui se résorbe rapidement... »

Casoni injectait un demi-centimètre cube de liquide. Cette dose trop forte risque de provoquer un traumatisme déclenchant une réaction inflammatoire susceptible de fausser l'interprétation de la réaction, surtout la phase précoce, cette dernière n'étant pas connue de son promoteur. Pour éviter toute réaction mécanique, cause d'erreur non moins négligeable, on préfère actuellement une très petite dose d'antigène : un dixième à deux dixièmes de centimètre cube.

La lecture.

Le résultat doit être observé immédiatement. La phase précoce de la réaction débute dans les trois à dix minutes qui suivent l'injection.

La papule augmente de diamètre, qui peut atteindre un à deux centimètres et même plus dans les réactions particulièrement intenses. Cette zone érythémateuse s'entoure, au bout d'un certain temps, cinq à quinze minutes, d'une plaque ortiée, rosâtre, surélevée, le tout réalisant la cocarde urticarienne typique. L'ensemble de cette zone peut être chaude, légèrement douloureuse, parfois même prurigineuse. Tels sont les caractères de la réaction précoce signalée pour la première fois par Perrez-Pontana. Ainsi définie elle doit, seule, être retenue.

La réaction tardive ou phase consécutive de Perrez-Pontana, moins fréquente et moins caractéristique, peut survenir dans les vingt-quatre ou quarante-huit heures suivantes. Il s'agit, en général, d'une infiltration érythémateuse du même très étendue avec œdème du tissu cellulaire sous-cutané et à aspect pseudo-phlegmoneux qui se manifeste avec ou sans intervalle libre avec la réaction précoce. Venant renforcer la valeur diagnostique de la première, elle ne saurait en être séparée. Moins constante que la première, lorsqu'elle reste isolée, il s'agit alors soit d'une fausse réaction de Casoni, soit d'une observation mal faite, et la réaction précoce est passée inaperçue.

Echappée à l'observation de Casoni lui-même, la réaction précoce a reçu actuellement l'accord unanime de la plupart des auteurs.

Les réactions, dites ébauchées ou subpositives, sont douteuses, et doivent être considérées comme négatives. Il faut alors surveiller étroitement l'évolution de la réaction en ayant constamment à l'esprit le principe, suivant lequel, on doit considérer comme négatif tout ce qui n'est pas nettement positif.

Résultats obtenus dans diverses statistiques.

La valeur comparative des résultats obtenus par différents auteurs ne peut prendre un caractère absolu, étant donné la diversité dans le choix et la préparation de l'antigène utilisé, sans parler de la technique et de l'interprétation si souvent variées. Néanmoins, ces résultats peuvent nous donner quelques renseignements précis sur la valeur propre de l'intra-dermo-réaction.

La première en date est celle de Gas Barrini (1919). En rattachant le mécanisme de la réaction aux phénomènes d'anaphylaxie, il se déclare favorable à la méthode de Casoni : onze fois sur douze la réaction tardive (on ne connaissait pas encore la réaction précoce) se montre positive. Le douzième malade se trouve porteur de kyste supprimé.

Luridiana (1920) rapportait cinq cas positifs sur six cas de kyste hydatique vérifiés. Cette réaction est toujours négative dans vingt autres affections.

Pontana, la même année, distingue la réaction précoce de la réaction tardive. Il obtient vingt-six résultats positifs sur trente et un cas de kyste hydatique vérifiés chirurgicalement. Il essaye en vain d'obtenir un état anaphylactique chez les porteurs de kystes par simples injections répétées.

Serra rapporte huit réactions positives sur neuf cas d'échinococcose (1921). Le cas négatif était un kyste supprimé.

Del Torto, dans un travail publié en 1922, considère sans valeur la réaction précoce de Pontano. Il n'a obtenu que neuf réactions positives sur quatorze cas de kyste confirmé.

Botteri, se basant uniquement sur la réaction tardive, signale que la réaction est parfois faible lorsque la maladie évolue sous forme de « phtisie hydatique ». Une réactivation de la réaction est possible par des « bons soins et une diététique reconstituante ».

Manassei (1923), en obtenant douze réactions positives sur quatorze cas de kystes confirmés, signale une augmentation de l'éosinophilie après l'intra-dermo-réaction.

Iturrat et Calcagno, résumant l'ensemble des travaux des auteurs argentins (Ginsti et Hug, Deluca, Bacigalupo et Grosso), ne tenaient compte que de la réaction précoce et des caractères de l'image radiologique pour établir le diagnostic de kyste hydatique. Leur étude porte sur 137 malades. Ils obtenaient : 65 réactions positives avec deux réactions faussement positives et deux autres négatives, chez des porteurs authentiques de kystes. Pour ces auteurs, l'intra-dermo-réaction est une réaction de premier ordre, autant par sa spécificité que par sa rapidité pour l'élaboration du diagnostic.

Lemaire et Jahier (1924) reconnurent l'extrême sensibilité de la réaction après l'avoir utilisée pour dépister le kyste hydatique chez vingt malades suspects.

Deutsch (1915), attache une grande valeur à la réaction tardive, et considère la réaction de Casoni comme strictement spécifique.

Cignozzi, après dix ans d'expériences, attribua une valeur absolue à la réaction de Casoni dans le diagnostic de l'échinococcose. Sa sensibilité était chiffrée à 95 % des cas.

Dévé publiait, en 1921, quatorze réactions positives sur quatorze cas de kyste vérifiés chirurgicalement.

Lemaire et Thiodet (1926), avançaient le chiffre de 85 %, Morénas et Lagèze, de 80 %.

Callot et Helly admettaient que la réaction de Casoni est positive dans 85 % des cas de kyste hydatique. Elle est positive aussi chez les porteurs de tœnia, de Cysticerques, mais elle est négative dans le cas des kystes morts ou suppurés.

Thiodet affirme tout récemment, en 1955, la quasi-constance de la réaction de Casoni, si elle est faite suivant une bonne technique et observée convenablement.

Pour les auteurs américains en particulier, Irving, Kagan, Dorothy et Norman, la sensibilité de la réaction de Casoni varie entre 53,8 % et 100 % (1959).

Nous voyons que les résultats oscillent entre deux limites séparées par un écart appréciable. De notre part nous croyons que, faite suivant une bonne technique utilisant un antigène préparé selon le procédé récent de lyophilisation, et observée convenablement par un clinicien averti, la réaction précoce de Casoni doit présenter une sensibilité au moins égale à 95 % des cas. Quant à la réaction tardive diversement interprétée et peu caractéristique, le chiffre de 65 % n'est pas abusif.

Sa valeur.

Malgré sa grande fidélité, la réaction de Casoni, comme toute réaction biologique, est sujette à des défaillances. Elles seront de l'ordre de 5 à 7 % pour la plupart des auteurs.

Pourquoi la réaction de Casoni reste-t-elle négative chez certains porteurs de kyste hydatique ? Plusieurs hypothèses ont été proposées, mais aucune ne semble satisfaisante.

Il est incontestable qu'elle reste négative chez les porteurs de kyste ayant subi, pour une cause ou pour une autre, un état ane-

gique. Ces causes sont multiples et connues pour la plupart : les maladies infectieuses en général, l'état de grossesse, l'accouchement, une intervention chirurgicale, l'anesthésie, une cachexie prononcée...

En dehors de ces conditions précises, il est des cas dans lesquels l'intra-dermo-réaction reste négative chez des sujets porteurs de kyste hydatique.

Suivant l'hypothèse proposée par Rosas Costa, on peut distinguer trois sortes de kystes hydatiques : les hydatiques immuno-actives, les hydatiques immuno-sélectives et les hydatiques privées d'immunité. Les premières très actives, chez lesquelles le passage des substances sensibilisantes à travers la membrane est constant, toutes les réactions immunologiques se révèlent positives. Ce passage devient sélectif chez les hydatiques du deuxième groupe, et seule l'intra-dermo-réaction sera positive. Les hydatiques du troisième groupe, comme leur nom l'indique, ne donnent lieu à aucune réaction biologique.

Lemaire et Thiodet, Perez Pontana, s'ils acceptent les deux premiers groupes, rejettent catégoriquement le troisième. Ils attribuent cette négativation à un état d'anergie, souvent passager, de cause inconnue. La répétition au même point, à 2 ou 3 jours d'intervalle, de l'injection intradermique de l'antigène hydatique, réveillant chez les porteurs de kyste la réaction cutanée, représente un argument de ces auteurs. Cette absence de virage de la réaction de Casoni chez les porteurs de kyste ou même chez les sujets indemnes d'échinococcose n'est pas admise par tous. Sergent, Forestier, dans la thèse de Jimenez Galliano, affirment le contraire : une seconde intra-dermo-réaction, pratiquée plusieurs jours après la première, s'est révélée positive dans 48 % des cas.

Thiodet fait des réserves en ce qui concerne les kystes osseux et musculaires, dans lesquels souvent l'intra-dermo-réaction est en défaillance.

Afin de résoudre cette question épineuse, une étude serrée, avec des antigènes purs et stables, semble nécessaire.

A côté de ces défaillances par défaut, il faut signaler les défaillances par accès. Chez des sujets normaux, indemnes d'hydatidose ou atteints d'autres affections, une réaction de Casoni peut-elle être positive ?

Les cas de réaction de Casoni faussement positive sont rarement signalés.

La plupart des auteurs n'accordent que peu de valeur à ces résultats. Thiodet, en particulier, insiste sur la nécessité d'une bonne tech-

nique et s'interroge sur l'existence des kystes sans manifestation clinique et non décelables par la radiologie chez ces sujets apparemment normaux, indemnes d'échinococcose. D'après cet auteur, l'autopsie a montré parfois des kystes hydatiques du foie ou de la rate vivants ou calcifiés que rien cliniquement n'avait fait soupçonner.

CONCLUSION

Simple, facile à réaliser même au lit du malade, l'intra-dermo-réaction de Casoni a le mérite d'être une épreuve clinique.

Pratiquée suivant une bonne technique et avec des antigènes convenablement préparés, cette réaction, qualitative certes, possède une sensibilité suffisante pour constituer un appoint appréciable au diagnostic clinique de l'hydatidose.

Positive, elle le reste assez longtemps chez un même sujet, malgré la guérison par un traitement médical ou chirurgical. Le diagnostic de kyste hydatique récidivant, post-opératoire par exemple, par cette réaction est illusoire.

La réaction paraspécifique est facile à déceler. L'intra-dermo-réaction est plus intense avec l'antigène directement spécifique.

ÉTUDE DES RÉACTIONS SPÉCIFIQUES D'ORDRE IMMUNOLOGIQUE PROPREMENT DIT

I. - - REACTION DE DEVIATION DU COMPLEMENT

HISTORIQUE

C'est Ghedini qui, le premier, dévia le complément chez 3 malades opérés de kyste hydatique du foie (1906-1907) en employant comme antigène le liquide hydatique.

En 1908, Weinberg et ses collaborateurs entreprenaient l'étude de cette réaction sur des animaux, puis sur l'homme. A la même année, Imaz, Apphalié et Lorentz appliquaient ce procédé au diagnostic pré-opératoire de l'hydatidose.

Au cours des années suivantes, des résultats se multiplient : Weinberg et Parvu (1908), Weinberg et Boidin (1909), Lejars et Parvu (1909), Walther (1909), Bettencourt (1909), Apphalié et Lorentz (1909), Barsony et Egan...

L'intérêt que l'on porte à la question est à son point culminant. Très satisfaits de leurs résultats, ces auteurs ont commencé à travailler sur le mode de préparation des antigènes. On discute sur la différence des qualités antigéniques des liquides de provenance animale et humaine (Laubry et Parvu, 1908), puis sur le liquide et la membrane (Ghedini, Graetz, Verenter, Putzu, Bramestein, Israël, de Sandro...). On propose ensuite différents extraits alcooliques (Parvu), aqueux (Rosello, 1909), la poudre hydatique de Weinberg (1909), le

dépôt alcoolique de Weinberg, les extraits éthérés d'Urioste et Scaltritti (1911).

Cependant, très vite, des défaillances de la méthode avaient été constatées. La publication d'une réaction négative chez un porteur de kyste hydatique authentique de Chauffard, puis celle de Paiseau et Tixier, sur une réaction positive chez un sujet indemne d'échinococcose ne tardaient pas à déclencher un grand nombre d'autres publications mettant en doute les résultats de la méthode.

Actuellement, malgré sa simplicité, tous les auteurs affirment, d'un commun accord, que la réaction de fixation de complément se montre insuffisante dans sa précision et sa sensibilité.

D'après J. Coudert, il semble qu'elle est améliorable par l'emploi des antigènes lyophylisés.

TECHNIQUE

Les antigènes employés.

1° *Liquide hydatique.*

Au début, on a beaucoup insisté sur la nécessité d'employer le liquide hydatique d'origine humaine. Laubry et Parvu (1908) affirment ensuite l'identité de la valeur absolue entre les liquides hydatiques quelle que soit leur provenance.

Ghedini, Graetz, Kreuter, Putzu... préconisent l'emploi du liquide naturel. Alors qu'Urioste et Scaltritti préfèrent les extraits.

Weinberg donne sa préférence au liquide d'origine ovine, de mouton plus exactement. Il conseille de le recueillir aseptiquement et de le distribuer en petits tubes. La conservation à la glacière n'excède pas 10 à 15 jours. Cet inconvénient avait fait penser à l'auteur d'ajouter quelques gouttes d'eau phéniquée pour préserver le liquide du développement de microorganismes. Devant les maigres résultats obtenus par ce procédé, Weinberg, Barsony et Egan, Bramestein, conseillent à leur tour de conserver le liquide hydatique dans des tubes où on a fait préalablement le vide et que l'on ferme à la flamme.

Barsony et Egan, en signalant l'inégalité des quantités d'antigènes contenus dans différents liquides de mouton, insistent sur la nécessité d'un titrage soigné.

Itburat utilise du liquide hydatique humain naturel.

Botteri ajoute 2 % de chloroforme.

Lemaire et Jahier emploient des liquides filtrés sur bougies et vérifiés au point de vue pouvoir antigénique;

2° *Extraits alcooliques.*

Après avoir constaté la solubilité de l'antigène hydatique dans l'alcool à 85°, Parvu a préparé un extrait alcoolique (1908).

Kreutner, Guiart et Garin, associant à cet extrait de Parvu l'extrait alcoolique des membranes ont obtenu un antigène plus actif, mais très vite, devant les insuccès de leur emploi, ces extraits sont tombés dans l'oubli.

3° *Extraits aqueux.*

Des membranes hydatiques durcies à l'alcool et desséchées à l'étuve sont réduites en poudre dans un mortier (Rossello). Puis cette poudre est mise en suspension dans de l'eau physiologique. Le surnageant servira d'antigène.

Fortement recommandé par Kreuter, Israël et Hahn, cet antigène donne des résultats inférieurs au liquide hydatique et présente les mêmes inconvénients que l'extrait alcoolique (Urioste et Scaltritti).

Rist prépare un extrait aqueux en supprimant le traitement à l'alcool de la membrane. Les résultats sont comparables à ceux du liquide hydatique.

4° *Poudre hydatique de Weinberg.*

Il s'agit de liquide hydatique desséché par le vide, le résidu étant conservé à sec. Au moment de l'emploi, on dilue la poudre dans de l'eau distillée.

De Gactano, Urioste et Scaltritti prétendent que cette méthode donne des résultats peu précis et de nombreuses erreurs.

5° *Dépôt ou résidu alcoolique.*

Weinberg dilue l'extrait alcoolique de Parvu dans de l'eau physiologique.

6° *Extraits éthers.*

Urioste et Scaltritti (1911) recueillent les antigènes sur une bougie de Chamberland, les dessèchent par un courant d'air, puis les traitent par de l'éther. Le résidu obtenu après l'évaporation de l'éther sera traité par le Cl Na avant d'être conservé. Pour l'usage, on mélange cette poudre avec de l'eau distillée.

On peut aussi prendre la poudre hydatique de Weinberg et la traiter ensuite à l'éther. Rist proposa un extrait éthéré des membranes. L'extrait éthéré, comme l'extrait alcoolique, présentent les mêmes inconvénients. L'emploi de ces deux solvants entraîne une dénaturation certaine des antigènes.

7° *Antigènes lyophilisés.*

Pour palier à ces inconvénients, J. Coudert a le mérite de découvrir une nouvelle méthode de préparation des antigènes : la lyophilisation, qui permet d'obtenir des antigènes spécifiques, purs et stables.

Les corps parasitaires sont prélevés vivants. Il faut éliminer tous les parasites morts ou présentant des signes d'altération. Leur origine importe peu : humaine ou animale, naturelle ou artificielle. Toute trace de débris de tissus de l'hôte ou de corps étranger doit être éliminée par un lavage soigneux et répété au sérum physiologique stérile. Après un essorage sur du papier filtre stérile, les corps parasitaires peuvent soit servir immédiatement à l'extraction de l'antigène, soit être mis en réserve sous congélation à -45°C. , soit lyophilisés.

L'extrait aqueux se fait à partir de ces éléments parasitaires par une macération dans une solution physiologique isotonique à basse température (4°C.). La suspension antigénique ainsi obtenue est ensuite décantée, centrifugée et filtrée.

Cette suspension répartie aseptiquement en ampoules peut être conservée à la température de congélation (-45°C.).

Elle peut être lyophilisée directement. Le produit obtenu par cette dessiccation sous vide à basse température est mis en ampoules fermées sous atmosphère d'azote. Ces ampoules peuvent se conserver indéfiniment à la température ordinaire.

Une poudre-stock peut aussi être préparée à partir de ces corps parasitaires après l'essorage. On les broie dans des mortiers stériles. La poudre obtenue est mise dans de petits flacons stériles entièrement remplis et hermétiquement bouchés. La conservation se fait à la température ordinaire, à l'abri de l'air et de la lumière. Cette poudre peut se prêter à une extraction aqueuse de l'antigène.

Principe et technique.

Principe.

Adaptation de la méthode générale de Bordet Gengou (1901), au cas particulier du kyste hydatique, la réaction de fixation du complément se base sur la propriété générale de la réaction d'adsorption

du complément par l'immun-complexe, quelle que soit sa nature. Il est évident que, au point de vue pratique, dans tous les cas où la combinaison de l'anticorps avec l'antigène entraîne une agglutination ou une précipitation, il n'est pas nécessaire de détecter la position du complément (ou alxine).

La réaction de fixation ou de déviation du complément est réservée aux cas où l'immun-complexe n'est pas visible.

Le sérum à étudier, décomplémenté par chauffage à 55° C. pendant une demi-heure, est mis en contact avec l'antigène. On ajoute quelques gouttes de sérum frais d'un sujet sain. L'anticorps du sérum malade (ou sensibilisatrice) se fixe sur l'antigène correspondant et l'immuno-complexe ainsi formé adsorbe le complément apporté par le sérum frais.

Si, dans un second temps, on ajoute le réactif du complément (hématies + anticorps) rien ne se produit. La réaction est positive.

Quand la réaction est négative, c'est-à-dire quand il y a absence de sensibilisatrices dans le sérum du malade, le complexe anticorps-antigène ne se forme pas; le complément reste disponible et, au cours du deuxième temps, il est adsorbé sur l'immuno-complexe réactif (hématies + sérum hémolytique chauffé), qu'il désintègre avec mise en liberté de l'hémoglobine.

Matériel.

Le complément.

Elément normal de tout sérum, il est plus constant dans le sérum de cobaye.

les heures qui suivent. Etant donné la variabilité individuelle des

Après le prélèvement, on a soin de défibriner et de centrifuger le sang du cobaye. Le sérum obtenu sera utilisé de préférence dans cobayes au point de vue complément, Charlet conseille une collection de sang de plusieurs cobayes à la fois. Ainsi on obtient un complément moyen mais constant.

Le système hémolytique.

— Globules rouges.

On emploie des globules rouges de mouton frais et lavés.

Le sang recueilli aseptiquement est défibriné. On le centrifuge, puis on remplace le sérum par de l'eau physiologique. Les globules rouges complètement débarrassés de leur sérum sont dilués dans de l'eau physiologique afin d'obtenir le volume primitif.

— *Sérum hémolytique.*

Le sérum hémolytique anti-mouton est obtenu par injection de ces globules rouges à des lapins. Le sérum de lapin sera employé inactivé.

Les éléments fixes.

La solution physiologique est à 9 ‰, tandis que les globules rouges sont employés en suspension dans de l'eau chlorurée à 1/20°. Les globules rouges qui s'hémo lysent spontanément sont à rejeter.

Les éléments variables.

Il est nécessaire de vérifier et de titrer, avant chaque réaction, le complément, le sérum hémolytique et l'antigène.

Souvent on choisit le complément pour vérifier et titrer les deux autres.

Technique proprement dite.

De cet unique principe, plusieurs procédés ont été proposés :

1° Parmi les procédés classiques, on peut citer le procédé des doses croissantes d'antigène et le procédé des doses croissantes de sérum.

La réaction se réalise dans des tubes sérologiques classiques.

Dans la première phase on mélange, en milieu chloruré, l'antigène à doses croissantes ou à doses constantes suivant le procédé, du sérum frais de cobaye (complément) et le sérum inactivé du malade à doses constantes ou croissantes. Les tubes sont mis dans une étuve à 37° C. pendant une heure.

On ajoute dans la deuxième phase le système hémolytique : sérum hémolytique et globules rouges. On préfère sensibiliser les globules rouges à l'avance.

Après agitation, le tout passe à l'étuve pendant 25 minutes, après lesquelles ont lieu les réactions.

Des tubes témoins ont été employés comme dans toutes les réactions sérologiques.

Pour la notation, on tient compte du taux de dilution de l'antigène ou du sérum.

2° D'autres procédés ont été utilisés par différents auteurs.

Le procédé rapide de Parvu et Levaditi consiste à utiliser directement le complément normal du sérum humain. Le sérum du malade est donc employé sans être décomplémenté.

Dans le procédé de Noguchi, le système hémolytique est anti-humain au lieu d'être anti-mouton.

— Le procédé de Ferrannini utilisait un système hémolytique tout à fait différent. Cet auteur s'adresse directement à l'hémolysine naturelle présente dans le sérum d'anguille et les globules rouges du lapin.

— Le procédé de Maragliano, plus compliqué, est trop difficile à réaliser.

Lecture

Elle se fait de la même manière que celle de toute réaction d'hémolyse : la réaction est dite positive lorsqu'il n'y a pas d'hémolyse et négative dans le cas contraire. Il faut toujours bien examiner les tubes-témoins.

Toutes les réactions douteuses doivent être considérées comme négatives (Weinberg).

Causes d'erreur.

Tout en suivant une bonne technique, des causes d'erreur subsistent.

Le sérum, prélevé à jeun, doit être employé frais.

Certaines affections intercurrentes peuvent modifier les propriétés du sérum. Les maladies fébriles lui donnent un pouvoir empêchant; les icères chroniques, un pouvoir de fixation spontané du complément. D'autres sérums ont, par contre, le pouvoir de favoriser l'hémolyse. Les premières causes peuvent être évitées par la lecture des tubes témoins, alors qu'il est difficile de s'y soustraire lorsque le sérum contient des substances favorisant l'hémolyse.

Les sérums spécifiques (syphilitiques) empêchant l'hémolyse dans tous les tubes sont faciles à déceler.

Résultats obtenus.

Ils sont extrêmement variables suivant les auteurs. Ceci est certainement dû à l'emploi des antigènes variés.

Weinberg obtenait 88 % (1911) de résultats positifs. Ithurrat et Calcagno donnaient un chiffre identique (1923). Hamilton Fairley (1922) trouvait la réaction franchement positive dans 84 %. Del Torto a obtenu 86 % de succès.

Par la suite, divers auteurs devaient signaler des chiffres de résultats positifs sensiblement inférieurs. Mlle Thiellé, élève de Weinberg, n'a pu obtenir que 12 % de succès. Putzu, en 1931, avait obtenu une

proportion globale de 69 % de réactions positives. Pinelli n'a obtenu la réaction de déviation du complément que dans la proportion de 31 % des cas. De leur côté, Burnet et Anderson en Tunisie, Lemaire et Thiodet en Algérie, ont donné des chiffres de réactions positives allant de 17 à 25 %.

Récemment, en 1959, Irwing, Kagan, Allain et Norman, n'obtiennent que 36,3 % de réactions positives (étude sur 220 cas), alors que Garabed, Garabedian, Matossian et Suidan, avancent un chiffre de 77.2 %.

La diversité des antigènes employés explique la divergence des résultats obtenus. Une opinion reste difficile à se faire tant que l'emploi des antigènes ne sera pas standardisé.

CONCLUSION

Malgré cette réserve, nous sommes autorisés à affirmer, nous semble-t-il, que la réaction de fixation du complément, réalisée par une bonne technique, avec des antigènes de titre éprouvé et stables, a une sensibilité suffisante.

Positive, elle a alors une valeur absolue. Sa sensibilité spécifique, bien que supérieure à celle des réactions de précipitation, est nettement moindre que celle des réactions d'agglutination des particules sensibilisées.

Sa technique est cependant relativement facile à réaliser et se trouve à la portée de la plupart des laboratoires de biologie clinique courante.

II. -- PRECIPITO-REACTION DE FLEIG ET LISBONNE

HISTORIQUE

Après la découverte des précipitines par Joest et Gherardini, en 1906, Fleig et Lisbonne, en 1907, communiquent à la Société de Biologie de Paris les premiers résultats de leur réaction de précipitation obtenus à partir de liquide hydatique et du sérum des porteurs de kyste hydatique.

Elle fut appliquée au diagnostic de l'hydatidose par Welsh, Chapman et Storey, en 1908, en Australie.

Conforto puis Pontana, améliorent la technique et réalisent la précipito-réaction au benjoin colloïdal.

Sa faible sensibilité et son manque de spécificité l'ont fait abandonner par la plupart des auteurs.

Récemment, Oudin et Ouchterlony l'améliorent en imaginant une réaction de précipitation dans un milieu gélifié.

Principe et technique.

Le principe est fort simple : on obtient un précipité floconneux en ajoutant 12 à 15 gouttes de sérum à 2 cc de liquide hydatique humain au bout de 12 à 24 heures.

La technique se réduit à sa plus simple expression : dans un tube à expérience, on met 2 cc de liquide hédatique et 12 gouttes de sérum à examiner. On mélange intimement cette solution et on voit se former, après 12 à 24 heures, un précipité floconneux caractéristique dans le cas de réaction positive. Cette durée se trouve réduite à 5 heures si on porte le mélange à l'étuve à 37° C.

Résultats obtenus.

Cette réaction est inconstante. Weinberg ne l'a trouvée positive que dans 34 % des cas. Pinelli, seulement dans 23 %.

Sa spécificité a été prise en défaut par divers auteurs : elle peut être positive dans une cirrhose biliaire (Weinberg), un hydronéphrose (Dévé); une leucémie (Putzu), un cancer des voies biliaires, un sarcome abdominal (Pinelli).

Dévé et Lemaire l'ont obtenue positive avec du liquide de « *Cysticercus Tennicollis* ».

La réaction n'est donc nullement d'une spécificité absolue, comme avait soutenu Fairley.

Certains auteurs prétendent que la précipito-réaction, telle que la faisaient Fleig et Lisbonne, pèche essentiellement par la difficulté de la lecture et, pour pallier à cet inconvénient, ils en ont modifié la technique.

Valls Conforto (1930), proposa la première réaction de précipitation au benjoin colloïdal.

Le mélange de liquide hydatique et d'eau physiologique d'une part, et d'une solution alcoolique de benjoin de 1/50 d'autre part, est porté au bain-marie à 45° C. On mélange ces deux solutions lorsqu'elles sont à la même température.

Le réactif obtenu est ajouté au sérum inactivé du malade.

Si le liquide se clarifie, la réaction est positive.

Les résultats ont été décevants. Pérez Pontana constata que la réaction de Conforto donne de meilleurs résultats avec du sérum non chauffé.

Cet auteur prétend avoir obtenu de bons résultats.

CONCLUSION

Bien que de réalisation facile, cette réaction un peu grossière ne semble pas présenter une netteté et une sensibilité suffisantes.

Elle ne retiendra pas notre attention; son utilisation, à l'heure actuelle, est presque complètement abandonnée.

III. — REACTION DE PRECIPITATION SPECIFIQUE EN MILIEU GELIFIÉ

(Selon la technique d'Ouchterlony)

Historique.

La précipitation en gélose est une méthode d'investigation générale des protéines.

Décrite en 1905 par BéchoId, elle ne trouve des applications scientifiques qu'en 1946, lorsque Oudin pratiqua la réaction de diffusion simple en tube. La précipitation se réalise par la diffusion d'un liquide antigénique dans la gélose imprégnée par l'immun-sérum correspondant; à chaque zone de précipitation correspond un système antigène-anticorps.

En 1948, Ouchterlony pratique la diffusion double en boîte de Pétri. Dans l'une des trois cupules en triangle équilatéral pratiquées dans de la gélose coulée dans une boîte de Pétri, il met l'antisérum et, dans les deux autres, les deux antigènes à analyser. Si les deux antigènes sont identiques, les lignes de précipité se raccordent très parfaitement, sinon elles se raccordent très imparfaitement : les antigènes ont des fractions communes.

BjörIund, en 1952, améliora la technique d'Ouchterlony en ajoutant à la concentration de gélose du merthiolate. Ce produit, ne modifiant en rien la réaction, facilite la lecture par son action inhibitrice sur le développement des colonies microbiennes.

Grabar et Williams (1952), ont l'idée géniale de combiner l'immuno-chimie à l'électrophorèse et augmentent ainsi considérablement la sensibilité de cette méthode d'analyse. Le liquide antigénique subit d'abord une séparation électrophorétique avant de passer à la diffusion double d'Ouchterlony.

En 1955, Wilson et Pringle entreprennent une étude systématique des facteurs intervenant dans cette réaction de double diffusion.

D'autres auteurs ont cherché alors avec succès (de 1950 à 1956), à faire appliquer cette méthode au diagnostic des différentes maladies : grippe, fièvre aphteuse, peste porcine.

Kagan, en 1957, au moyen de cette méthode, conclut à l'identité des antigènes de trois souches de sporotrichum (*S. Schenkii*, *Beurmanni* et *Astéroïdes*). La température de 4° C. semble stimuler l'apparition et l'intensité des lignes de précipités. Peu de temps après, il démontre l'identité des antigènes de l'*ascaris* de l'homme et de celui du porc.

Hartmann et Toilliez ont proposé une micro-technique qui réduit considérablement le temps de la réaction, mais elle s'est montrée plus délicate à réaliser et donne des résultats peu nets.

Technique.

1° *Préparation de la gélose.*

De la gélose très pure, limpide, est fondue dans de l'eau bi-distillée bouillante. A la dissolution de la gélose on ajoute du chlorure de sodium. La solution obtenue sera stérilisée à l'autoclave et filtrée à plusieurs reprises sur un gros Buchner.

Solidifiée, la gélose sera coupée en cubes avant de passer au lavage par un courant d'eau.

On redissout à nouveau la gélose en ajoutant des merthiolates. En dernier lieu s'effectue la mise en boîte de Pétri.

Tel est le procédé de Moosbrugger.

D'autres procédés ont été proposés : celui de Difco, de Prolabo.

Ce dernier a été utilisé au laboratoire de parasitologie de la Faculté de Lyon. De la gélose purifiée fournie dans le commerce est dissoute dans de l'eau bi-distillée bouillante additionnée de chlorure de sodium et de merthiolate. A la dissolution on vérifie le pH de la solution et, si besoin est, on ajoute quelques traces de carbonate de soude pour obtenir un pH neutre, et on la stérilise à l'autoclave.

La solution obtenue est filtrée pour enlever toute impureté capable de gêner la lecture.

Il ne semble pas nécessaire d'ajouter différents colorants (bleu de bromo-phénol, le métyl orange...) pour que la lecture soit plus nette.

2° *Mise en boîte de Pétri.*

La gélose encore liquide, ou rendue liquide par bain-marie, est coulée en boîte de Pétri sur une épaisseur de trois millimètres environ.

Après solidification, des cupules de sept millimètres de diamètre, espacées de sept millimètres, sont pratiquées au moyen d'emporte-pièces, la boîte étant posée sur un repère.

On colmate le fond des cupules après avoir enlevé le bloc de gélose découpée en ajoutant une à deux gouttes de gélose liquide.

La disposition des cupules, de même que leur taille, varie suivant les auteurs, mais la plus pratique semble celle comportant cinq trous, un au centre et quatre autres équidistants, aux quatre sommets d'un carré.

3° *Préparation des antigènes.*

Au cours des travaux effectués, MM. Condert et Ch. Doucet n'ont utilisé que des antigènes lyophilisés, dont nous avons déjà exposé le mode de préparation et les avantages; nous ne revenons pas sur cette question. Les antigènes liquides ont été essayés sans succès.

4° *Sérums.*

Le sérum est employé décomplémenté ou frais; la réaction se produit aussi bien avec du sérum frais qu'avec du sérum ancien, ou même partiellement hémolysé.

5° *Conduite de la réaction.*

La disposition de l'antigène et du sérum varie suivant les auteurs et le but poursuivi. Il est préférable, dans le cas particulier (Douchet), de mettre le sérum dans la cupule centrale et l'antigène à différentes concentrations à la périphérie. Lorsqu'on est en présence de plusieurs parasitismes possibles, et si l'on veut faire un diagnostic différentiel, il est logique alors de mettre le sérum au centre et les différents antigènes à la périphérie.

Les cupules remplies respectivement d'antigènes et du sérum, sont laissées pendant quatre à huit heures à 37° C. L'influence de la

température sur l'apparition du précipité est différemment constatée par divers auteurs. Il est fort probable que cette contradiction est due à la différence des systèmes antigènes-anticorps utilisés.

La lecture commence à partir de la 48^e heure et se prolongera jusqu'au cinquième ou sixième jour. Elle s'effectue macroscopiquement en faisant réfléchir, sur la face inférieure de la boîte, une lumière quelconque. On apprécie la zone de précipitation au sein de la gélose entre les cupules à antigènes et celles au sérum. Pour la lecture, on tient compte, en plus, du taux de dilution de l'antigène, de l'intensité de la précipitation, en se basant sur le nombre de stries et la date de l'apparition.

6° Résultats obtenus.

Dans la thèse de Douchet, J. Conderet a fait essayer cette méthode à quelques parasitoses, telles que la distomatose, la bilharziose, l'anguillulose, l'ascaridiose, les affections dues au cestodes, l'hydatidose en particulier, la trypanosomiase, la trichinose, la toxoplasmose, l'ankylostomose. Les résultats obtenus, concernant le kyste hydatique, semblent présenter un intérêt certain. La méthode doit pouvoir s'appliquer efficacement au diagnostic de l'échococcose. De plus, le diagnostic différentiel entre Tœniasis, kyste hydatique et *Bobriocéphale* est possible par l'emploi simultané de trois antigènes correspondants. Les réactions de groupe sont réelles, mais elles sont plus nettes avec l'antigène direct qu'avec les autres. Les taux de sensibilisation varient entre 1/50 à 1/100.

7° Les causes d'erreur.

Douchet ayant étudié les différents facteurs de la réaction, préconise une concentration de gélose qui varie de 10/1.000^{es} à 30/1.000^e. (15/1.000^{es} en moyenne) un pH compris entre 6 à 8,7 (7,5 en moyenne), une température d'incubation à 37° C et l'emploi de Cl Na et du merthiolate pour empêcher le développement des colonies microbiennes susceptibles de gêner la lecture. Un dernier facteur semble venir compliquer singulièrement la réaction : le rapport antigène-anticorps. En vertu d'une loi générale de l'immunité, le précipité maximum, par suite la lisibilité de la réaction, s'obtient quand l'antigène et l'anticorps sont en quantité équivalente (point d'équivalence). L'excès d'anticorps fait disparaître le précipité. Cette condition paraît délicate à réaliser.

En dehors de ces facteurs d'ordre technique, d'autres causes d'erreur subsistent.

Certaines proliférations microbiennes peuvent, malgré l'emploi du Cl Na et du merthiolate, se développer et gêner considérablement la

lecture, soit parce qu'elles provoquent l'apparition de précipités non spécifiques dans le sérum, soit parce qu'elles masquent la zone de précipitation.

Chez certains sujets ayant un sérum très instable (abcès du foie par exemple), les précipités non spécifiques peuvent apparaître.

Ils sont peu caractéristiques par leur situation par rapport aux cupules, par leurs caractères physiques : flous, irréguliers, mais facilement décelables pour un expérimentateur averti.

Une autre cause d'erreur assez grossière peut tromper tout manipulateur peu averti. Le mauvais colmatage des cupules laisse diffuser le sérum ou l'antigène dans une direction quelconque.

Fait important, Loiseleur signale que la réaction ne pourra être positive, même s'il s'agit d'un sérum provenant d'un porteur de kyste hydatique, si l'organisme contient à la fois l'antigène et l'anticorps correspondants.

CONCLUSION

Malgré le nombre peu élevé des résultats obtenus, il semble que la conclusion suivante peut s'établir :

Réaction qualitative et de sensibilité moyenne, elle s'adresse à des cas où le taux d'anticorps est déjà élevé.

De réalisation facile et peu coûteuse, elle peut se contenter de l'emploi éventuel de sérums assez anciens et même hémolysés.

Sa spécificité est suffisante, mais la lecture est parfois longue.

IV. — L'IMMUNO-ELECTROPHORESE

INTRODUCTION

L'électrophorèse (Tiselius, 1937), a été, à l'origine, pratiquée par ceux qui s'attachent à analyser les milieux biologiques complexes, en particulier le plasma et le sérum. Peu à peu elle élargit ses applications à la détection des substances anormales, en général de nature protéidique, présentes dans le milieu intérieur de l'organisme, produites par divers processus pathologiques.

S'adressant, au début, uniquement à des propriétés chimiques des substances à analyser, cette méthode ne tarde pas à faire appel d'une manière bénéfique à leurs propriétés physiques. C'est ainsi

qu'ont été réalisés successivement l'ultra-centrifugation, l'électrophorèse en milieu liquide, sur papier et, enfin, une toute dernière technique mettant en œuvre des réactions immunologiques.

Il est possible d'identifier et même d'isoler les protéines possédant des propriétés antigéniques grâce à l'action de l'antisérum correspondant et inversement. C'est donc une technique essentiellement qualitative. Apparemment limitatif, ce caractère se trouve parfaitement compensé par un double avantage : l'extrême sensibilité et la haute spécificité de la technique.

Lorsqu'en 1949, Oudin et Ouchterlony ont proposé de réaliser des réactions de précipitation d'antigène-anticorps en milieu gélifié, méthode permettant l'identification et le dénombrement des multiples antigènes souvent présents dans les milieux biologiques, l'immunologie a fait un grand pas. En effet, reprenant l'étude de cette technique, Grabar et Williams ont eu le mérite, en 1953, de proposer à leur tour une nouvelle méthode combinant les avantages de la séparation électrophorétique et de l'identification immunologique des constituants protéiques du sérum. Récemment (1953), Scheidegger, en Suisse, appliquant le même principe, a imaginé une micro-technique qui permet d'éviter les inconvénients de la technique originale.

Technique.

Combinaison heureuse de deux techniques foncièrement différentes, l'immuno-électrophorèse, pour la compréhension de son principe, nous oblige à faire un rappel succinct des notions essentielles sur ses composants.

1° Immuno-chimie.

Les antigènes peuvent donner plusieurs genres de réactions en présence des anticorps correspondants : réaction d'agglutination, de précipitation, de floculation, etc...

L'étude qualitative des réactions de précipitation spécifique a bénéficié des méthodes de diffusion en milieu gélifié de Oudin et Ouchterlony. Elle se prête admirablement à l'étude comparative des mélanges d'antigènes.

La diffusion simple d'Oudin consiste à superposer à l'immunosérum gélifié la solution antigénique; les antigènes diffusent dans le gel et donnent lieu à des zones de précipitation.

La diffusion double d'Ouchterlony, beaucoup plus simple, utilise une boîte de Pétri dont le fond est recouvert d'une couche de gel

de gélose dans laquelle on creuse deux petits puits : on y met respectivement l'antigène ou le mélange antigénique et l'antisérum (anticorps). Les deux liquides diffusent dans le gel et l'on note, après un certain temps, la présence d'un ou de plusieurs arcs de précipitation, selon le nombre de constituants antigéniques (voir aussi chapitre réaction de précipitation spécifique en milieu gélifié).

Grâce à un artifice supplémentaire, cette technique présente un autre intérêt inédit : la possibilité de préciser les parentés immunologiques de divers antigènes.

Autour du puits central où l'on dispose l'immun-sérum, on creuse plusieurs autres puits équidistants destinés à recevoir les solutions antigéniques à comparer. Les arcs de précipitation se coupent lorsqu'il n'existe aucun degré de parenté, l'identité de deux antigènes se traduit par la continuité de la ligne de précipitation; une communauté antigénique partielle donne une image intermédiaire.

Lorsqu'on a à examiner de très nombreux antigènes, l'antisérum sera déposé dans une rigole longitudinale et les mélanges antigéniques dans différentes cupules.

Cette méthode perd considérablement en clarté aussitôt qu'on a affaire à un mélange d'un certain nombre d'antigènes. L'image sera beaucoup plus claire si, avant la diffusion, on arrive à fractionner le mélange, par exemple au moyen de l'électrophorèse. C'est à Grabar et Williams (1953), que revient le mérite d'avoir pensé à associer ces deux techniques.

2° *Electrophorèse.*

L'électrophorèse en phase liquide, découverte par Tiselius, a été très vite modifiée par différents auteurs en utilisant un milieu solide comme support du mélange à étudier : papier, poudre de verre, poudre de cellulose, amidon, gélose.

L'électrophorèse sur papier, en raison de sa simplicité et aussi de son coût moindre, a pu acquérir droit de cité dans presque chaque laboratoire. Elle n'en est pas moins sujette à certaines critiques bien fondées : l'adsorption peut être considérable et varie suivant la qualité du papier. La poudre de verre, l'amidon, n'offrent pas une texture solide.

La gélose semble, en revanche, réunir le plus d'avantages.

Utilisée d'abord par Gordon, Grabar et Williams, Bussard, Scheidegger et Uriel, elle représente très probablement l'idée originale de Grabar et Williams d'associer l'électrophorèse à la technique de précipitation spécifique en milieu gélifié d'Oudin-Ouchterlony.

3° *Immuno-électrophorèse.*

L'immuno-électrophorèse est donc la combinaison, sur une même plaque de gélose, d'une séparation électrophorétique des antigènes avec une précipitation spécifique au moyen d'un immun-sérum.

On fait d'abord une électrophorèse du mélange déposé dans un trou creusé dans la gélose. Les différentes fractions se trouvent alors séparées et sont définies par leur mobilité. Si, maintenant, on creuse à quelque distance de la « piste » des antigènes une fente parallèle au sens de migration et qu'on y place l'immun-sérum, on aura une source continue d'anticorps qui pourront diffuser latéralement à la rencontre des antigènes correspondants diffusant radialement autour du point que leur avait assigné leur charge électrique. Chaque antigène rencontrant son anticorps formera un précipité, comme dans la boîte de Pétri.

La technique de Grabar et Williams se pratique en coulant un gel de 3 mm. d'épaisseur sur des verres de 13 × 18 cm. Le trou, contenant 0,5 cc. de solution d'antigène, est distant de 5 mm. de la fente à immun-sérum.

L'électrophorèse dure quatre heures sous une tension de 4 v./cm., et le temps de diffusion est de dix jours.

La micro-immuno-électrophorèse proposée récemment par Scheidegger (1956), semble capable de réduire ce temps à 24 heures.

Possibilité d'application éventuelle au diagnostic de l'hydatidose.

Utilisée au début avec succès pour l'étude analytique du sérum humain normal, elle étend ses possibilités presque aussitôt aux cas pathologiques. Grâce à l'immun-sérum, elle arrive à déceler la présence des fractions protidiques anormales dans le sérum humain causée par les myélomes multiples, le cancer secondaire des os, l'agammaglobulinémie, la néphrose lipéidique, les affections hépatiques, le purpura hyper-globinémique, les macro-globulinémies.

L'éventualité d'une application de cette technique extrêmement sensible et hautement spécifique au diagnostic de l'hydatidose, sera réalisable au prix d'une disposition spéciale : on fait migrer l'immun-sérum et le sérum complet du malade. L'antigène sera placé entre les deux. Il est ensuite possible de repérer sur l'image complète la ligne correspondant aux anticorps.

V. --- LA REACTION D'AGGLUTINATION DES PARTICULES DE COLLODION SENSIBILISEES

Historique.

Loeb avait montré que les particules de collodion sensibilisées par un antigène se recouvrent d'un film de cet antigène; Joves utilisa des particules de collodion, ainsi que des hématies, comme support d'antigènes.

Zozaya montra ensuite que les polysaccharides absorbés sur un support colloïde, et principalement sur des particules de collodion, peuvent acquérir des propriétés antigéniques.

Des particules inertes de nature très différente furent alors essayées : bactéries, hématies, particules de cholestérol et de collodion... et d'autres, qui n'ont pu être retenues, mais les particules de collodion ont donné des résultats très intéressants.

Se pose alors le problème de préparation d'une suspension stable et homogène de particules de collodion; Loeb, le premier, montra que la stabilité de la suspension est fonction du potentiel électrique existant entre les particules de collodion et le liquide au sein duquel elles se trouvent; Bedson et Mudd arrivèrent à des conclusions identiques.

Freund utilisa la préparation de Loeb comme support de toxine et d'anatoxine.

Cannon et Marshall et Goodner utilisent cette réaction d'agglutination des particules de collodion dans le titrage des anticorps des sérums animaux inoculés expérimentalement avec différentes souches bactériennes.

Eisler montre que la concentration optima des particules de collodion varie selon les antigènes employés.

Divers auteurs ont alors appliqué cette méthode d'agglutination à des sérums d'hommes ou d'animaux présentant des affections variées : tuberculose (Weir, Riordan, Morris), syphilis (Berger), infections à pneumocoque (Berger). Leur résultat était couronné de satisfaction.

Cavelti, améliorant la technique de préparation des particules de collodion, donne des notions nettes et précises sur la concentration de la suspension et sur la technique de la réaction d'agglutination.

Saslaw et Campbell, se servant de cette technique améliorée, s'appliquent à la recherche et au titrage d'anticorps dans des sérums

d'hommes et d'animaux atteints d'histoplasmose; Havens et Eichman, dans l'étude des hépatites virales.

La plupart des auteurs ayant utilisé l'agglutination des particules de collodion se sont montrés satisfaits et ont insisté sur la simplicité de la réaction, ainsi que sur sa grande spécificité.

Nous verrons quelle conclusion nous pourrons tirer de cette réaction.

Technique.

1° Préparation des particules de collodion.

Elle comporte deux parties : la mise en suspension de ces particules en eau bi-distillée et leur tirage par centrifugation.

a) Mise en suspension des particules de collodion.

Le mélange de collodion-alcool-éther est mis en solution dans de l'eau bi-distillée. Le collodion s'est rassemblé sur la baguette de l'agitateur. On dessèche ce collodion recueilli dans un dessiccateur à l'acide sulfurique et à la soude. On procède ensuite à la mise en solution à 10 % dans de l'acétone-eau. La solution sera agitée vigoureusement. On recueille le surnageant. Cette opération est répétée plusieurs fois. Dans la pratique, les surnageants des septième et neuvième opérations sont seuls recueillis. On filtre ce surnageant à travers des gazes, puis on le mélange avec de l'eau distillée froide. L'extraction de l'acétone se fait ensuite par évaporation, au moyen d'un courant d'air passant à travers la solution.

b) Le triage des particules de collodion.

Après avoir lavé les particules ainsi obtenues à l'eau tri-distillée par filtration à travers plusieurs épaisseurs de gazes, on procède à leur triage par centrifugation différentielle (à des nombres de tours par minute différents).

La suspension de collodion est ajustée en densité finale (solution anticorps-antigène-collodion), de façon à réaliser le n° 2 de l'échelle de Mac Farland.

La solution-stock ainsi obtenue peut être conservée dans un flacon pyrex, à la température du laboratoire, dans un endroit obscur, pendant cinq à six mois.

Soucieux de commodité, Coly a proposé quelques modifications à cette technique originale. Il préfère une dessiccation simple à l'étuve à 37° C. au dessiccateur à l'acide sulfurique et à la soude. Il combine,

en plus, pour gagner du temps (48 heures au lieu de huit jours), une aspiration par pompe à vide au barbotage de l'air, dans l'extraction de l'acétone.

2° *Préparation des antigènes.*

a) *Antigènes lyophilisés.*

Suivant la méthode proposée par J. Coudert, les corps parasitaires sont prélevés vivants. D'origine humaine ou animale, ces parasites sont lavés à plusieurs reprises, au sérum physiologique stérile afin de les débarrasser soigneusement de toutes particules étrangères. On les essore sur du papier-filtre stérile, puis on procède à la dessiccation rapide à l'étuve.

Le produit brut obtenu, desséché et broyé en mortier stérile, peut être stocké en petits flacons stériles, entièrement remplis et hermétiquement bouchés, à l'abri de l'air et de la lumière.

L'antigène sera préparé par extraction aqueuse à basse température de cette poudre-stock. Une dilution qu'on laisse à 4° C. pendant 24 heures, est prête pour la lyophilisation proprement dite, après décantation et filtration.

Les antigènes lyophilisés obtenus sont mis dans des ampoules, à raison de 1 cc. par ampoule, fermées sous vide ou sous azote. Les ampoules ainsi préparées peuvent se conserver indéfiniment à la température ordinaire.

Au moment de l'utilisation, l'antigène se prépare extemporanément en redissolvant le contenu de l'ampoule dans 1 ml. d'eau distillée stérile. A partir de cette solution-mère, on fait des dilutions par dédoublement dans du sérum physiologique.

b) *Antigène liquide.*

On recueille aseptiquement le liquide hydatique d'origine humaine ou animale. Filtré, puis mis en ampoule stérile, il est placé à la glacière.

3° *Technique de la réaction d'agglutination.*

a) *Sensibilisation des particules de collodion par les antigènes.*

Cavelti a proposé deux méthodes :

— *Sensibilisation des particules de collodion par l'antigène et l'élimination subséquente de l'antigène non adsorbé.*

On laisse le mélange antigènes et particules de collodion à l'incubation pendant 12 heures, au réfrigérateur ou à la température

ambiante ou à l'éluve 37° C. On le décante par centrifugations successives, puis on le remet en suspension dans une solution saline (solution de Cl Na à 9/1.000). La concentration d'antigène doit être suffisamment élevée.

Cannon et Marshall et Lowell, en utilisant l'ovalbumine cristallisée, ont pu établir que la meilleure sensibilisation des particules de colloïdion s'obtient avec une solution d'ovalbumine à 5 %. De plus, ils insistent sur l'état physique de l'antigène. Il semble que le phénomène d'adsorption de l'antigène sur les particules inertes est maximum lorsque le pH de l'antigène est à son point iso-électrique.

Au moment de l'usage, on décante ce mélange incubé, puis on ajoute au sédiment obtenu une solution saline pour porter les particules à la concentration voulue. A partir de ce réactif-mère, on fera des dilutions par dédoublement au sérum physiologique.

A cette méthode délicate, de nombreux auteurs préfèrent actuellement la suivante :

— *Le simple mélange.*

L'antigène employé dépend du pouvoir adsorbant des particules inertes, ou plus exactement de leur tendance à l'agglutination non spécifique. Si ce pouvoir s'avère faible, l'antigène est utilisé non dilué, on diluera ensuite le mélange antigène-particules obtenu jusqu'à la densité finale; dans le cas inverse, on s'adresse à l'antigène dilué dans une solution saline.

L'incubation se fait par agitation vigoureuse pendant quelques minutes, à la température du laboratoire.

b) *Dilution de l'antigène.*

La réussite du test se trouve strictement liée au choix d'une dilution optimum de l'antigène, comme l'ont remarqué Eisler et Cavelli. Une concentration trop forte d'antigène rend difficile la lecture de la réaction, tandis qu'une concentration trop faible donne une réaction négative. Un titrage est donc nécessaire; il se fait couramment pour l'emploi des sérums positifs à différentes dilutions avec des mélanges de collodion-antigène, dans lesquels la proportion d'antigène se trouve progressivement croissante. La dilution optimum est celle qui donne un titre élevé et une forte agglutination.

c) *Dilution des sérums.*

Les sérums frais décomplémentés par chauffage pendant 30 minutes à 60° C. donnent de meilleurs résultats. La dilution se fait habituellement par dédoublement dans du sérum physiologique de 1/4 à 1/128. Coly remarque que, souvent, on constate des phénomènes

d'agglutination non spécifique pour certains sérums à dilution inférieure à 1/10. Ces phénomènes, dus uniquement aux particules inertes et au sérum, ne doivent pas être considérés dans la lecture de la réaction.

d) *Conduite générale du test.*

La réaction d'agglutination peut se faire de deux façons différentes : soit en tubes sérologiques avec lecture macroscopique, soit sur une plaque à godets en plexiglass, avec agitateur de Kline et lecture microscopique.

Pour la première, on met dans chaque tube 0,2 cc. de sérum à différentes dilutions et 0,30 cc. de réactif, c'est-à-dire le collodion sensibilisé à l'antigène. Après agitation et incubation à la température ambiante pendant 1 à 2 heures, puis centrifugation, la lecture se fait macroscopiquement devant un écran noir placé devant une source lumineuse.

La notation se fait de la façon suivante :

- + + + + lorsqu'il y a un agglutinat avec des amas de diamètre de 1 à 1,5 mm. et plus.
- + + + : des amas plus petits et moins nombreux.
- + + : des amas plus petits.
- + : des amas nettement visibles.
- ± : des agglutinats juste à la limite de visibilité.

Calvetti conseille une seconde lecture effectuée 12 heures après la première. Il ne semble pas (Coly), qu'elle apporte un élément supplémentaire aux résultats.

La réaction sur plaque à godets en plexiglass s'adresse à une technique similaire. Simplement les tubes sérologiques sont remplacés par des godets. Cette méthode à lecture microscopique semble permettre (Burger) l'obtention de titres d'agglutination plus élevés.

Bien entendu, dans l'une ou l'autre méthode, des réactions-témoins sont nécessaires.

4° *Résultats obtenus.*

Dans sa thèse, Coly (1955), applique cette méthode au diagnostic de quelques parasitoses (distomatose, trypanosomiase, affections dues aux cestodes, histoplasmoses, toxoplasmose, ascaridiose et l'anguillulose) et, malgré le nombre limité de cas, il n'hésite pas à affirmer l'intérêt certain de cette méthode dans le diagnostic de ces maladies parasitaires et, en particulier, de l'échinococcose. La réaction est positive pour des taux de dilution compris entre 1/8 à 1/64.

CONCLUSION

Constante (3 cas positifs sur 3), elle se révèle d'une haute spécificité. Elle permet, en plus, le diagnostic différentiel entre les différentes cestodes. Son taux de sensibilité (entre 1/8 et 1/64), la porte au niveau des réactions les plus sensibles. Cette dernière qualité, jointe à son caractère quantitatif, fait d'elle une réaction-référence pour le titrage des antigènes et lui confère un intérêt sémiologique dans la surveillance du traitement de l'hydatidose.

A côté de ses qualités rares et indéniablement précieuses, il semble qu'on est en droit de formuler à son encontre quelques reproches sur le plan technique. La préparation de l'émulsion des particules de collodion est délicate et longue (3 à 4 jours au moins) et sa conservation n'est pas indéfinie. Si la lecture est facile avec des sérums frais et propres, elle est moins nette avec des sérums vieillis ou hémolysés. De ce fait, elle est souvent réservée aux laboratoires plus ou moins spécialisés et actuellement on préfère la réaction d'agglutination des particules de Bentonite sensibilisées, légèrement moins sensibles, mais facile à réaliser.

VI. — LA REACTION D'AGGLUTINATION DES PARTICULES DE BENTONITE SENSIBILISEES

Historique.

En 1951, Bozicewich et ses collaborateurs ont étudié les premiers la réaction d'agglutination des particules de bentonite sensibilisées par un antigène extrait de trichines du rat.

Devant la simplicité technique et les résultats obtenus par cet auteur, Norman, Sadun, Allain, Kagan et Donaldson envisagent d'étudier les antigènes purifiés (trichine) par cette réaction. Elle est ensuite appliquée au diagnostic d'autres parasitoses : kyste hydatique, toxocara canis, puis ascaris. Sa spécificité est confirmée.

J. Coudert, dans la thèse de Gibert, fait appliquer avec succès cette réaction au diagnostic d'anguillulose, de trypanosomiase et de toxoplasmose.

Technique

Préparation de la suspension de bentonite.

On emploie le bentonite C qui semble donner les meilleurs résultats. Les bentonites MT et AF avec leur pouvoir précipitant élevé donnent des suspensions moins stables et pauvres en particules colloïdales.

De la bentonite mise en solution dans de l'eau distillée, on obtient par agitation à grande vitesse une suspension homogène.

On porte la suspension à une dilution plus élevée. La solution obtenue est agitée vigoureusement, puis laissée au repos pendant un certain temps (une heure) pour laisser décanter les grosses particules et les impuretés. On recueille le surnageant, puis on procède à la sélection des particules de collodion par centrifugation différentielle.

Les particules sédimentant entre les vitesses de centrifugation de 1.300 tours par minute et 1.600 tours par minute sont conservées. Les particules trop grosses donnant des agglutinations spontanées fournissent des réactions faussement positives, alors que les particules de dimensions trop faibles donnent des réactions insuffisamment lisibles et pèchent par défaut.

La suspension mère ainsi obtenue peut être conservée pendant plusieurs mois si l'eau distillée employée est neutre.

Ces différentes manipulations doivent s'effectuer à l'abri des poussières qui déterminent une cause d'erreur non négligeable.

Sensibilisation des particules de bentonite

La technique proposée par Bozicewich nécessite de grosses quantités d'antigènes et de plus le réactif obtenu a une tendance appréciable à flocculer spontanément. Ce qui justifie la modification qu'ont voulu apporter J. Coudert et Gibert.

Le culot de centrifugation (3.000 tours par minute) à partir de la suspension mère est mis en contact avec de l'antigène dilué dans l'eau distillée et laissé incubé pendant 24 heures à 4°C.

Puis on ajoute le vert brillant.

Après avoir laissé reposer pendant 5 à 10 minutes ce mélange, on procède à l'élimination du colorant en excès par des lavages-centrifugations (3.000 tours par minute). Le dernier culot est repris par le sérum physiologique tamponné à pH 7,3 au moyen d'un phosphate.

La standardisation des particules sensibilisées ne peut être qu'utile. Bozicevich n'a obtenu aucun résultat par une méthode spectrophotométrique.

Les antigènes employés.

Les antigènes lyophilisés préparés selon le procédé préconisé par J. Coudert ou antigènes B. des auteurs américains sont largement utilisés. On emploie aussi les poudres d'antigène et les extraits aqueux en solution physiologique. Leur conservation se fait pour les premiers par des flacons stériles entièrement remplis et hermétiquement bouchés, à l'abri de l'air et de la lumière, et à basse température pour les seconds. La lyophilisation semble le procédé de conservation le meilleur. Le liquide hydatique filtré et conservé en ampoules a été également essayé.

Un titrage des antigènes s'avère utile. On cherche la concentration antigénique qui donne des réactions valables à partir d'un sérum connu. Habituellement, on prend un sérum ayant donné des réactions positives par d'autres méthodes (Cavelti, Ouchterlony,) et provenant des malades qui ont fait une preuve parasitaire de leur affection. La concentration 1/100^e est retenue en ce qui concerne l'antigène hydatique lyophilisé. On a par ailleurs entrepris une étude comparative des différents antigènes hydatiques par ce procédé de titrage, avec l'antigène lyophilisé comme référence. Le résultat obtenu prouve que l'antigène liquide conservé à l'état frais donne des réactions médiocres, peu sensibles, et après une conservation de six mois environ, il ne donne lieu à aucune réaction. Des résultats presque semblables sont obtenus avec l'extrait aqueux de l'antigène en solution physiologique.

Les poudres originales destinées à la lyophilisation et les antigènes lyophilisés ont donné des résultats les plus constants, même après plusieurs années de conservation.

Normann, Sadun, Allain ont proposé en plus des antigènes lyophilisés, un liquide hydatique stabilisé par une solution isotonique de Na Cl.

Conduite générale de la réaction.

Elle s'effectue, comme dans la réaction d'agglutination des particules de collodion sensibilisées sur une plaque à godets en plexiglass type Kline.

Le sérum est employé frais de préférence et décomplémenté par chauffage à 56°C. pendant 30 minutes ou à 60°C. pendant 3 minutes.

On dilue le sérum dans une solution physiologique tamponné de pH 7,3. Les dilutions habituellement utilisées varient de 1/2 à 1/64.

Dans chaque godet ainsi rempli de 0,2 ml environ de sérum à différentes dilutions, on met environ 0,02 ml de réactif.

La plaque ainsi préparée est agitée légèrement à la main, puis est placée sur l'agitateur de Kline.

Après 15 à 25 minutes d'agitation à 100 tours par minute, la lecture se fait immédiatement au microscope à faible grossissement.

Pour la notation on tient compte du degré de flocculation des particules de Bentonite :

- + + + : lorsque 3/4 des particules sont floculées.
- + + + + : lorsque toutes les particules sont floculées.
- + + : lorsque 1/2 des particules sont floculées.
- + : lorsque moins de 1/2 des particules sont floculées.
- : lorsque les particules restent en suspension.

Les réactions positives à une croix sont considérées comme négatives.

Causes d'erreur.

L'emploi de réactif coloré permet de réduire considérablement les causes d'erreur.

L'impureté apportée par le sérum ou par l'antigène au cours des différentes manipulations paraît la première et l'unique cause d'erreur à signaler. Elles sont susceptibles de donner des agglutinations spontanées. La lecture microscopique permet de les éliminer assez facilement. Les sérums conservés renferment fréquemment ces impurétés. Il est donc recommandé et prudent, dans ce cas, de les centrifuger avant l'emploi.

Résultats obtenus.

D'après les travaux réalisés cette année au laboratoire de Parasitologie de la Faculté sur plusieurs parasitoses (distomatose, l'échinococcose, ascariodiose, anguillulose, trypanosomiase, toxoplasmose), en particulier sur l'hydatidose et malgré le nombre peu élevé des cas, les résultats obtenus semblent concluants. La réaction s'est montrée 5 fois positive sur 5. Le taux de dilutin varie entre 1/8° et 1/32°. Au cours de cette étude on a pu effectuer des réactions avec l'antigène de Botriocéphale, les taux obtenus sont faibles. Ces sérums étudiés avec d'autres antigènes (douve, ascaris) sont demeurés négatifs.

Normann, Sadun et Allain, après avoir (1.148 cas humain ou animal) appliqué cette réaction sur 35 cas de kyste hydatique vérifiés chirurgicalement, insistent sur ses précisions, sa simplicité et sa spécificité.

CONCLUSION

Bien que sa précision et sa sensibilité soient moindres que celles de la réaction d'agglutination des particules de collodion, cette réaction doit pouvoir être appliquée au diagnostic du kyste hydatique. Elle est plus simple et plus rapide.

Sa lecture est facile et précise; les causes d'erreur semblent être réduites au minimum.

Comme la réaction d'agglutination des particules de collodion, elle permet un titrage d'anticorps. Cette qualité rare et précieuse a fait de cette réaction un moyen de surveillance de l'évolution de l'hydatidose.

Cependant, elle nécessite l'utilisation d'antigènes plus concentrés que dans d'autres réactions d'agglutination.

VII. — LA REACTION D'HEMAGGLUTINATION PASSIVE

Historique.

Elle fut utilisée pour la première fois par Middlebrook et Dubos et par Koeger et collaborateurs, pour la recherche d'anticorps actifs sur des corps microbiens. D'autres travaux ont ensuite été effectués dans ce domaine par de nombreux auteurs : Alexander Wright, Baldwin, Shi Man Chang, Murray S. Nyder, Takeda, Watanabel, Kuribayishi, Kinchi.

Cette réaction vient de bénéficier d'une nouvelle amélioration très appréciable apportée par Boyden. Il a montré que les globules rouges traités par l'acide tannique sont capables d'adsorber de façon durable les antigènes et de former avec eux un complexe antigénique très spécifique et aisément maniable.

A la suite de cette amélioration, beaucoup de chercheurs utilisent la réaction d'hémagglutination passive pour l'étude de divers antigènes :

- Bactériens : Chen et collaborateurs, Benedict et O'Brien.
- Viraux : Burnel, Friedman, Vernon Scott.

— Champignons : Neter, Yokoyama, Vogel.

— Protéiques : Bordnas, Stavisky, Kissmeyer-Nielsen, Daussel, Duros et collaborateurs, Ruffé.

Cette technique d'hémagglutination passive permet de rechercher les anticorps actifs vis-à-vis des protozoaires et des métazoaires. On emploie des hématies traitées par l'acide tannique revêtues d'antigène purifié et stabilisé (antigènes lyophilisés de Coudert de préférence).

Technique

1° *Tannage des hématies.*

On peut utiliser les globules rouges humains ou animaux; habituellement ce sont des globules rouges de mouton. Les hématies sont recueillies sur billes de verre et centrifugées pendant 10 minutes, à 3.600 tours par minute. On décante le sérum surnageant. On procède ensuite au lavage des hématies par une solution saline tamponnée à pH 7,2 (par phosphate de Sorensen) et à la mise en solution à 4 %. On ajoute un volume égal de solution d'acide tannique à 1/20.000^e en sérum physiologique.

On laisse incuber pendant vingt minutes et à la température du laboratoire, puis un nouveau lavage est pratiqué avec la même solution tamponnée à pH 7,2 et, enfin, on procède à la mise en solution à 4 % en sérum physiologique.

2° *Fixation des antigènes sur les hématies.*

On emploie les antigènes lyophilisés préconisés par J. Coudert.

On ajoute un volume d'une solution saline tamponnée à pH 5 (par phosphate de Sorensen) et deux volumes de la suspension d'hématies tannées à un volume d'antigène. Avant de laver cinq fois, en solution saline de pH 7,2, les hématies ainsi traitées, on mélange la suspension par retournement et on laisse incuber 30 minutes au bain-marie à 37° C.

Les hématies-témoins sont tannées, mais traitées uniquement par le solvant de l'antigène.

3° *Sérums.*

Les sérums sont inactivés par chauffage à 50° C. pendant 20 minutes et dilués en sérum physiologique.

4° Réaction d'hémiagglutination.

Elle se fait suivant la technique décrite par Dausset (Dausset, Bergerot, Blondel et Paraf). Dans les godets d'une plaque de Ciréra, on ajoute une goutte de sérum à différentes dilutions et une goutte de réactif. Par agitateur rotatif de Kline, on agite la plaque ainsi préparée, pendant 7 minutes.

La lecture se fera immédiatement :

On note + + + lorsqu'il y a deux ou trois gros blocs d'agglutination des hématies,

+ +, une dizaine d'agglutinats,

+, un grand nombre de petits agglutinats nettement perceptibles macroscopiquement sur fond clair,

± dans les cas intermédiaires.

— lorsque le godet présente une teinte uniforme.

5° Précautions à prendre pour éviter les causes d'erreur.

La lecture doit se faire immédiatement, car si l'on attend, des agglutinations non spécifiques peuvent apparaître, bien que moins caractéristiques.

Le sérum frais non chauffé est capable de donner une agglutination plus ou moins discrète et moins spécifique (Bouisset, Kagan et Garabedian et collaborateurs).

La concentration de l'antigène, qui joue un rôle important, doit être suffisante. Les résultats sont nets entre 1/1 et 1/10 (Bouisset).

Les milieux de dilution salins semblent ne pas présenter les inconvénients des milieux albumineux. Une forte concentration de protéine peut fausser la spécificité.

Le titre de l'anticorps est maximum à basse température : 4° C.

La réaction est très sensible, toute cause d'impureté peut nous induire en erreur. J. Coudert a beaucoup insisté sur ce fait lorsqu'il traite des antigènes lyophilisées.

Les résultats obtenus.

C'est une réaction suffisamment sensible et spécifique (Takeda et collaborateurs, Chen et Meyer, Neter et Gorzynski, Ducos et Coll, Garabedian et Coll, Antoine et Ducrot).

Dans le domaine de l'échinococcose, peu de statistiques ont été publiées; nous ne possédons que celle de Irving G., Kagan, Dorothis Allain et Lois Norman.

Ces auteurs ont travaillé sur 30 cas de kystes hydatiques confirmés provenant des Etats d'Amérique du Nord et du Liban, et sur 246 témoins. L'intérêt de leurs travaux se trouve pleinement confirmé par le fait qu'ils ont pratiqué, dans un but d'étude comparative, trois tests biologiques chez ces mêmes malades : l'hémagglutination, la réaction de flocculation des particules de bentonite sensibilisées et la réaction de déviation du complément.

La réaction d'hémagglutination se révèle comme étant la plus sensible avec 96,6 % de résultats exacts, vient ensuite la réaction de flocculation des particules de bentonite sensibilisées avec 90 % et, enfin, la réaction de fixation du complément, 36,3 %. En revanche, chez les témoins, l'hémagglutination accuse la plus forte proportion d'erreurs, 14,2 % contre 10,1 % pour la réaction de flocculation de particules de bentonite sensibilisées et 0 % pour la réaction de déviation de complément. Pour conclure, ces auteurs mettent l'accent sur la valeur absolue d'une hémagglutination positive associée à une réaction de flocculation des particules de bentonite positive.

Garabed, Garabedian, Motassian et Suisan, après l'avoir fait appliquer au diagnostic de l'hydatidose sur 79 cas, avec 105 témoins, ont affirmé sa sensibilité spécifique (87,3 %). Elle n'a jamais été positive chez les témoins.

La réaction positive s'observe entre une dilution de sérum de 1/5 et 1/80.

Sa valeur

Une réaction d'hémagglutination et une réaction d'agglutination des particules de bentonite positives, obtenues à partir du sérum d'un malade cliniquement suspect d'hydatidose, constituent un argument absolu pour confirmer le diagnostic clinique. (Irving, Kagan, Allain, Norman.)

L'hémagglutination indirecte appliquée au diagnostic de l'hydatidose s'est montrée plus sensible que l'intra-dermo-réaction et la réaction de fixation de complément (Garabed, Garabedian, Matossian et Suidan).

CONCLUSION

Il est difficile de se faire une opinion sur une méthode dont on n'a pas l'expérience. Cependant, il semble que cette réaction d'hémagglutination est d'une sensibilité et d'une spécificité supérieures à celles de la réaction d'agglutination des particules de bentonite.

VIII. — CONCLUSION

Arrivé au terme de cette étude, nous devons tirer une conclusion. Nous nous efforçons de la rendre aussi claire que possible.

Dans cette parasitose un peu spéciale, dans le sens que les méthodes directes de diagnostic s'avèrent le plus souvent impossibles et insuffisantes, les procédés d'investigation biologique trouvent leur plein intérêt. Indépendants du siège des parasites dans le tissu de l'hôte, ils permettent d'identifier assez précocement le parasitisme en cause afin d'instituer un traitement efficace. Variés dans leur principe, ils n'ont pas toujours les mêmes valeurs diagnostiques.

a) L'éosinophilie sanguine, malgré son caractère non spécifique, représente un élément d'appoint appréciable dans le diagnostic de l'hydatidose. Il est difficile de lui refuser tout bénéfice surtout lorsqu'elle existe à côté d'autres signes cliniques et que toutes autres causes semblent être exclues.

Son caractère de résistance au test de Thorn et son élévation après une intra-dermo-réaction ou une injection sous la peau de liquide hydatique (éosinophilie latente) lui confèrent autant de qualités supplémentaires.

Obéissant à des lois précises, elle doit être correctement interprétée.

Cependant, du fait de son caractère peu frappant, elle ne permet pas un diagnostic évident.

La découverte récente des réactions quantitatives plus précises a fait diminuer sa valeur sémiologique dans la surveillance du traitement de la maladie hydatique;

b) L'intra-dermo-réaction de Casoni a le mérite d'être une épreuve clinique.

S'adressant à la réaction d'anaphylaxie et d'allergie de l'hôte, phénomènes particulièrement fréquents dans les parasitoses, elle s'avère très sensible à condition de la pratiquer selon une bonne technique et avec un antigène convenablement titré. La réaction précoce (d'anaphylaxie) a une valeur reconnue par l'unanimité des auteurs.

Son caractère qualitatif la fait réserver uniquement au diagnostic de l'hydatidose.

Positive, elle le reste assez longtemps chez le même sujet, malgré toute guérison par un traitement médical ou chirurgical. Il est illusoire de s'adresser à la réaction de Casoni pour dépister les récidives post-opératoires.

Les réactions paraspécifiques ne constituent pas un obstacle insurmontable. La réaction est plus forte avec l'antigène directement spécifié;

c) Dans un autre ordre, les réactions, mettant en évidence la présence d'anticorps hydatiques dans les humeurs de l'hôte, nous fournissent une gamme de méthodes biologiques qui ont, à des degrés différents, une valeur incontestable pour le diagnostic de la maladie hydatique;

1° Parmi les réactions de précipitation, la précipito-réaction de Fleig et Lisbonne est la plus simple et la plus anciennement connue. Actuellement, elle est presque abandonnée par son manque de précision en faveur d'une réaction de précipitation spécifique en milieu gélifié, ou réaction d'Ouchterlony qui, tout en restant simple sur le plan technique, permet une lecture plus précise et facile. D'une sensibilité moyenne cette dernière nécessite l'emploi d'un antigène plus concentré. Elle semble destinée aux cas où le taux d'anticorps est déjà élevé. Par contre, elle peut se contenter de l'emploi éventuel des sérums assez anciens et même hémolysés. Contre elle, des reproches portant sur la longueur de sa lecture et ses défaillances semblent pouvoir à juste titre être formulés.

Quant à l'immuno-électrophorèse, combinaison géniale de l'immuno-chimie et de l'électrophorèse, elle constitue la forme la plus perfectionnée de précipitation. Hautement spécifique et sensible, elle est encore à l'heure actuelle réservée à quelques rares centres spécialisés du fait des difficultés, de la minutie liées à sa réalisation. Mise activement à l'étude par différents auteurs, nous espérons qu'elle ne tardera pas à être dans la pratique courante de laboratoire.

2° La réaction de fixation du complément, d'une technique simple et courante et d'une sensibilité jadis faible, semble mériter d'être réhabilitée grâce à une bonne technique et à l'emploi des antigènes titrés et stables. Néanmoins, sa sensibilité spécifique, bien que supérieures à celle des réactions de précipitation, est moindre que celle des réactions d'agglutination des particules sensibilisées;

3° Plusieurs suspensions de particules sensibilisées ont été proposées, on ne retient que celles qui ont été utilisées déjà sur une assez large échelle.

Les particules de Bentonite sont ainsi choisies par Bozicewich. La réaction d'agglutination de ces particules a pour avantages sa simplicité, sa rapidité et sa lecture facilitée par l'emploi possible des colorants. Sa sensibilité spécifique, bien qu'inférieure à celle de la méthode de Cavelli, reste pratiquement suffisante. Elle devient

actuellement un procédé d'investigation courant au Laboratoire de Parasitologie de la Faculté (Lyon).

La réaction de flocculation de particules de collodion de Cavelli possède la sensibilité la plus élevée. Elle est cependant réservée comme méthode de contrôle, de référence dans les cas douteux par le fait que la préparation de la suspension de collodion est longue et délicate et que sa conservation n'excède pas 3 mois (6 mois pour la Bentonite). Sa lecture, moins aisée que celle de Bozicewich, est parfois gênée par l'emploi des sérums vieillis ou hémolysés.

La réaction d'hémagglutination passive ou indirecte selon la technique de Boyden semble venir s'interposer entre les deux autres sur le plan de la sensibilité spécifique. Faute de l'avoir expérimentée, il nous est difficile de se faire une opinion sur sa technique et ses causes d'erreurs.

Caractère intéressant ces dernières réactions, ou tout au moins les deux premières permettent un titrage des anticorps dans les humeurs des malades. Elles constituent ainsi donc de précieux éléments pour suivre et surveiller l'évolution de la maladie et à plus forte raison pour le diagnostic des récidives.

Nous remarquons aussi que dans tous les cas, pour être susceptibles de rendre des services et mériter la confiance des cliniciens, toutes les réactions immunologiques doivent être exécutées dans des conditions précises, avec des antigènes convenablement préparés, purifiés, titrés et stabilisés (antigènes lyophilisés).

CONCLUSION GÉNÉRALE

1° Le diagnostic de laboratoire de l'hydatidose a bénéficié des travaux modernes, gagnant en précision et en fidélité;

2° L'éosinophilie, souvent peu frappante, garde néanmoins des caractères particuliers et peut bénéficier d'une réactivation provoquée;

3° L'intra-dermo-réaction, par sa réaction précoce, et sous condition d'une technique impeccable, garde une valeur diagnostique de premier plan;

4° Les réactions de recherche d'anticorps permettent de compléter et de contrôler les données de l'intra-dermo-réaction. Les réactions de précipitation dans la gélose ont rénové le précipito-diagnostic.

Les réactions d'agglutination de particules sensibilisées de Bentonite, plus simple, ou de collodion, plus complexe et sensible, permettent de déterminer avec précision la nature des anticorps et d'en effectuer le titrage.

Vu :

LE DOYEN,

A.-H. HERMANN.

Vu :

LE PRÉSIDENT DE LA THÈSE,

PROFESSEUR COUDERT.

Vu et permis d'imprimer :

Lyon, le 1^{er} juillet 1960.

LE RECTEUR, PRÉSIDENT DU CONSEIL DE L'UNIVERSITÉ,

ANDRÉ ALLIX.

BIBLIOGRAPHIE

1. ANDRÉ A. — Facteurs de spécificité dans la réaction d'héماغglutination après tannage des hématies. *C. R. Soc. Biol.*, 1956, 150, 8-9, 1.561.
2. BAILENGER J. — Fréquence des localisations hydatiques chez l'homme et le bétail. *Bull. de la Société de Path. Exot.*, 1957, 308-314.
3. BOUISSOT, DUCOS J., RUFIE J., MOULIN J. — Technique d'héماغglutination passive dans la recherche de l'immunisation trypanosomienne. *Path.-Biol. (Sem. des Hôp.)*, n° 2, vol. 8, janvier 1960, pp. 94-98.
4. BEDSON S.-P. — Simple method for determining electrical charge carried by virus particles. *Brit. J. Exp. Pathol.*, 10, 364. 1929.
5. BERGER F.-M. — Agglutination test for serological diagnostic of syphilis. *J. Path. Bact.*, 55, 363, 1943.
6. BURGER M. — Microscopic observation of collodion particles as indicators of type-specific pneumococcic immune reactions. *J. Lab. Clin. Med.*, 228, 1.128, 1943.
7. BROTTES H. — Réactions de fixation du complément utilisant les antigènes tréponémiques (Souche Reiter). *Thèse Lyon*, 1954.
8. BOREL L.-J. et DUREL P. — L'immunifluorescence (ses possibilités en parasitologie). *Pat. Biol.*, janvier 1960, vol. 8, n° 12, 65-68.
9. BOYDEN S.-V. — The adsorption of proteins on erythrocytes treated with acid and subsequent hemmagglutination. *J. Exp. Med.*, 1951, 93, 107.
10. CABAEL Guy. — Contribution à l'étude de la maladie hydatique. *Thèse Alger*, 1953.
11. CIAUDO D. — Le kyste hydatique de la face supérieure du foie. Son diagnostic. Son traitement. *Sem. des Hôpitaux de Paris*, 1952, 2.841-2.845.
12. COLY M. — Essai d'application de la réaction d'agglutination des particules de collodion à quelques parasitoses. *Thèse, Lyon*, 1955.
13. COUDERT J. — Antigènes lyophilisés en parasitologie. *Presse Médicale*, 1955, 1, 73-84.

14. BOYDEN S.-V. — The adsorption of proteins on erythrocytes treated with acid and subsequent hemagglutination. *J. Exp. Med.*, 1951, 93, 107.
15. CANNON P.-R. and MARSHALL C.-E. — Studies on mechanism Arthus phenomenon. *J. of Immunol.*, 40, 127, 1941.
16. CAVELTI P.-A. — Studies on technic of collodion agglutination; influences of certains qualities of collodion particles and of proportions of antigen and colodion on sensitivity and specificity of reaction. *J. of Imm.*, 49, 365, 1944.
17. CAVELTI P.-A. — The technic of collodion particles agglutination *J. Imm.* 57, 141, 1947.
18. COUDERT J. — Antigènes lyophilisés en parasitologie. *La Presse Médicale*, 63, 1.080, 1955.
19. COUDERT J. — Mise en évidence des anticorps spécifiques dans quelques helminthiases tissulaires. Janv. 1960, vol. 8, n° 12, 139-144.
20. COUDERT J. — Antigènes parasitaires lyophilisés. Fifth International Meeting of Biological Standardization, 13-20 sept. 1959. Jérusalem-Tel-Aviv.
21. CAVIN W. SCHABE. — Host-parasite relationships in echinococcosis. II. Age resistance to secondary echinococcosis in the white mouse. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, january 1959, n° 1, vol. 8, 20-36.
22. — DOUCHET Ch. — Essai d'application de la réaction de diffusion en milieu gélifié à quelques parasitoses (selon la technique d'Ouchterlony). *Thèse*, Lyon, 1958.
23. DANIELLOU P. — Echinococcose alvéolaire hépato-pulmonaire. Essai de traitement médical. *Thèse*, Lyon, 1959.
24. DÉVÉ F. — Echinococcose primitive. Masson et Cie, éditeurs.
25. EISLER D.-M. — Influence of collodion particles on visible end-point in antibody trititation. *J. Imm.*, 42, 405, 1941.
26. FAURE P. — Fréquence de l'échinococcose en milieu marocain. Etude des tests biologiques en vue de leur application à la détection systématique. *Thèse*, Maroc (sans date).
27. FRAISSE et RIOUFOL. — Foie ficelé spécifique avec réaction de Casoni positive. *Arch. des Mal. de l'App. digestif*. 1958, 1114-1.117.
28. FRIESSINGER N., BERGERET A. et DUPUY R. — Un cas d'échinococcose alvéolaire du foie. *Bull. et Mém. Sté Méd. Hôp. de Paris*, 1936, 23 oct. 1936-1937.
29. GOODNER K. — Collodion fixation, new immunological reaction. 23 oct. 1936, 1937-1938.
30. GARABED, CARABEDIAN A., ROBERT M., MATOSSIAN and FAYIZ, SUIDAN G. — A correlative study of immunolocical of hydatid diasease. *The American J. of Tropical medicine and hygiene*, vol. 8, n° 1, 1959.

31. GASTINEL P., FASQUELLE R. et BARBIER P. — *Elément d'immunologie générale*. Masson et Cie, éditeurs.
32. GUNTZ M. — Les résections hépatiques réglées et leurs indications dans le traitement chirurgical du kyste hydatique. Bases anatomiques, physiologiques et cliniques. A propos de vingt observations. *Thèse*, Alger, 1956.
33. GARABEDIAN G.-A., MATOSSIAN R.-M., DJINIAN A.-Y. — An indirect hemagglutination test for hydatid disease. *J. Immunol.* 1957, 78, 269.
34. HAVENS J.-W.-P., EICHMANN H.-L. — Collodion particles agglutination with acute phase sera and immune globulin in viral hepatitis. *J. of Imm.*, 64, 349, 1950.
35. HILLEMANT, GILBRIN E. et TOULET J. — A propos de deux cas d'échinococcose alvéolaire. *Sem. des Hôp. de Paris*, 1951, 3.522-3.529.
36. HILLEMANT P., GAUDARD D'ALLAINES F., DELARUE J. et AUDOLY P. — Un cas parisien d'échinococcose alvéolaire du foie. *Bull. et Mém. Sté Méd. Hôp. de Paris*, 1942.
37. IRVING, KAGAN G., DOROTHY S., ALLAIN and LOIS NORMAN. — An evaluation of the hemagglutination and flocculation tests in the diagnosis of echinococcosis disease. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. January 1959, n° 1, vol. 8, 46-50.
38. JIMENEZ-GALLIANO Manuel. — Le virage de la réaction de Casoni après intra-dermo-réaction répétées. *Thèse*, Paris, 1939.
39. KAGAN I.-G. — Hemagglutination test with ascaris antigens. *J. Immunol.*, 1958, 80, 376.
40. KUNTZ R.-E., DEANER, LAWLESS K. and MALAKATIS G.-M. — Intestinal protozoans and helminths in Americans residing in Taiwan (Formosa). *The Amer. Journ. of Tropical Medicine and Hygiene*, January 1959, n° 1, vol. 8, 63-66.
41. LEMAIRE G. et THIODET J. — Résultats comparés des différentes méthodes biologiques de diagnostic des kystes hydatiques. Réaction de Casoni. *Arch. de l'Inst. Pasteur d'Alger*, 1926, 71-82.
42. LOWELL F.-C. — Comparaison of collodion particles technic with other method of measuring antibody. *J. Imm.*, 46, 177, 1943.
43. MORETTI G., GUIGNARD J. et BESSE P. — Obturation complète de la cave inférieure et circulation collatérale cave-cave par un volumineux kyste hydatique du foie. *Bull. de la Soc. de Path. Exot.*, 1957, 780-787.
44. NEUZIL E. — Facteurs adjuvants dans la réaction antigène-anticorps. *Techniques de lab.* Loiseleur. J. Masson, édit., 1, 851.
45. NEUZIL E. et MASSEYEFF R. — L'immuno-électrophorèse et ses applications. *Bull. de la Soc. Méd. d'Afrique noire de langue française*, 2^e trimestre, n° 2, vol. 8, 20-36.

46. NORMAN L., SADUN E.-H. and ALLAIN D.-S. — A bentonite of flocculation test for the diagnosis of hydatid disease in man and animals. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. January 1959, n° 1, vol. 8, 846-850.
47. PRIGENT M. — De l'hypertrophie et atrophie du foie dans l'échinococcose hépatique. *Thèse*, Alger, 1954.
48. PAUTRIZEL R. — Recherches sur genèse et la réaction des anticorps. *Thèse Science*, Bord., impr. E. Drouillard, 1948.
49. PAUTRIZEL R. et GOSMAN T. — Intérêt de l'étude des variations de l'éosinophilie sanguine dans le diagnostic de l'échinococcose humaine. *Sem. des Hôp.*, n° 60, 6 août 1953, p. 2.973.
50. PAUTRIZEL P. et BALLENGER J. — Immunité et allergie dans les helminthiases. *Path. Biol.*, janvier 1960, vol. 8, n° 12, 131-138.
51. PROST L. — Intra-dermo-réaction et en particulier réaction de Casoni. *Thèse*, Lyon, 1931.
52. RANQUE J., DEPIEDS R. et NICOLI R.-M. — Les phénomènes d'immunité en parasitologie. *Path. et Biol.*, janvier 1960, vol. 8, n° 12, 47-60.
53. RIST E. — La sensibilisation par l'épreuve de Casoni. Cause d'erreur dans le diagnostic du kyste hydatique. *Presse Médicale*, 1959, 201-203.
54. SERGENT E., FOURESTIER M., JIMENEZ E., GALLIANO. — Le virage de la réaction de Casoni après une deuxième ou plusieurs intra-dermo-réactions. *Bull. de l'Acad. de Médec.*, 1939, 7 févr. 1939, 180-185.
55. SEVENET G. et WITAS P. — Enquête sur l'échinococcose humaine en Algérie. *Arch. de l'Inst. Pasteur d'Alger*, 1926, 343-456.
56. SOURNIA J.-C. — Examen critique de quelques données concernant l'évolution et le diagnostic du kyste hydatique chez l'homme. *Presse Médicale*, 1958. T. 66, n° 82, 1.830-1.831.
57. SANTY, BÉRARD P. et SOURNIA J.-C. — Kyste hydatique du poumon. Problèmes diagnostique et thérapeutique. *Lyon Chir.*, 1947, 42, 393-417.
58. SAYAG J. — La résection du dôme saillant de l'adventice dans le traitement des kystes hydatiques du foie. *Thèse*, Alger, 1958.
59. THIODET J. — Allergie et anaphylaxie hydatiques. Réactions biologiques employées pour le diagnostic de l'hydatidose. *Algérie Médicale*. 1955, 151-170.
60. ZOZAYA. — Carbohydrates absorbed on colloïd as antigen. *J. of Exp. Med.*, 55, 326, 1932.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	17
--------------------	----

CHAPITRE PREMIER

HISTORIQUE GENERAL	19
--------------------------	----

CHAPITRE II

LOI GENERALE DE L'IMMUNOLOGIE PARASITAIRE.....	23
--	----

— L'immunité	24
— Les réactions tissulaires.....	25
— Les actions du parasite. Les antigènes.....	25
— Les réactions de l'hôte. Les anticorps.....	26
— Les rapports entre hôte et parasite.....	27

CHAPITRE III

CYCLE ET EVOLUTION DU KYSTE HYDATIQUE.....	31
--	----

CHAPITRE IV

LE DIAGNOSTIC IMMUNOLOGIQUE DU KYSTE HYDATIQUE.	35
---	----

— Première partie : étude des réactions non spécifiques : l'éosinophilie sanguine	35
— Deuxième partie : étude des réactions spécifiques d'ordre anaphylactique et allergique : l'intradermoréaction de Casoni	39
— Troisième partie : étude des réactions spécifiques d'ordre immunologique proprement dit	47
La réaction de fixation du complément de Weinberg	47
La précipito-réaction de Fleig et Lisbonne.....	54
La réaction de précipitation spécifique en milieu gélifié d'Ouchterlony	56
L'immuno-électrophorèse	60
La réaction d'agglutination des particules de collo- dion sensibilisées de Cavelti.....	64
La réaction de flocculation des particules de bento- nite sensibilisées	69
La réaction d'hémagglutination passive.....	73

CONCLUSION	81
------------------	----

BIBLIOGRAPHIE	83
---------------------	----

